UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

ZEITSCHRIFT

FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND

VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN · G. MELCHERS
F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

83. BAND 3. HEFT

MIT 22 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 18. APRIL 1950)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

SPRINGER-VERLAG

1950

Z. Vererbungslehre

Preis DMark 10.80

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften. Der Band umfaßt etwa 40—50 Druckbogen.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Dr. Hans Bauer, (23) *Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Banter Seedeich,*

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, (14b) *Hechingen, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, oder Tübingen, Zoologisches Institut, Hölderlinstraße 12,*

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,*

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, (17b) *Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9-11,*

Professor Dr. Klaus Pätau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,

Professor Dr. Hans Stubbe, (19b) *Gatersleben (Bezirk Dessau), Institut für Kulturpflanzenforschung.*

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig innerhalb dieses Zeitraumes zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DMark 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Wilhelmstraße 5,*

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,*

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:
G. Melchers für die Westzonen
H. Stubbe für die russisch besetzte Zone

Springer-Verlag.
Heidelberg
Berlin-Charlottenburg 2

Vertriebsvertretungen des Verlages im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 41—45 Neal Street, London, W. C. 2
Lange, Maxwell & Springer S.A., 24, Rue des Ecoles, Paris (V°)
Lange, Maxwell & Springer A.G., Basel 15, Neuweiler Str. 53.

Inhaltsverzeichnis auf Seite III

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 299—317 (1950).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DIE AUSLÖSUNG VON CHROMOSOMENVERÄNDERUNGEN DURCH INJEKTION WIRKSAMER SUBSTANZEN IN DIE KNOSPEN VON PAEONIA TENUIFOLIA.

Von

Friedrich Oehlkers und Hans Marquardt.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. September 1949.)

A. Einleitung.

In der Einwirkung von Urethanen auf die unmittelbar vor der Meiosis stehenden Zellen ist durch Oehlkers (1943) eine neue Methode gefunden worden, in einer mit Röntgenstrahlen vergleichbaren Häufigkeit Chromosomenmutationen, vor allem Translokationen auszulösen. Während die Lösungen zunächst nur abgeschnittenen Infloreszenzen zugeführt werden konnten, gelang es bald, auch intakte Pflanzen zur Aufnahme der Lösungen in die Leitungsbahnen der Sproßachse zu veranlassen (Oehlkers 1946). Im folgenden wird eine weitere Methode entwickelt, durch Injektion eines, früher als besonders wirksam gefundenen Äthyl-Urethan-Kaliumchlorid-Gemisches in die reduzierende Knospe eine Wirkung zu erzielen, ohne dabei die Knospenentwicklung bis zu befruchtungsfähigen Pollen unmöglich zu machen.

Die karyotischen Folgen einer Urethaneinwirkung auf Kerne unmittelbar vor oder in frühesten Stadien der Meiosis wurden bisher an einem *Oenothera*-Bastard mit einem Viererring, ferner an *Campanula* und *Lilium* festgestellt, und zwar als aberrante Konfigurationen in der Diakinese und Metaphase I der Meiosis. In der vorliegenden Untersuchung wird *Paeonia tenuifolia* als Objekt verwendet, welches fünf identifizierbare, große Bivalente besitzt, und bei welchen in der späten Metaphase die Chromatiden deutlich getrennt voneinander sichtbar sind. Infolge dieser günstigen Eigenschaften ist es möglich, die verschiedenen Aberrationen in qualitativer und auch quantitativer Hinsicht vollständiger zu erfassen als dies bei den bisher verwendeten Objekten der Fall war.

Da bisher die Auslösung mutativer Abänderungen des Chromosomengefüges — besonders diejenige durch Röntgenbestrahlungen — fast ausschließlich an der Mitose erfolgt ist, so haben wir die Typenklassifizierung der Aberrationen von diesen Arbeiten übernommen. Um aber dem Vergleich mit den Röntgenbefunden größere Sicherheit zu verleihen, haben wir in einem kurzen zweiten Teil unserer Arbeit auch noch die Reaktionen der Meiosis von *Paeonia* auf eine Röntgenbestrahlung als erwartungsgemäß ausgefallenes doch notwendiges Korrektiv angeführt.

B. Material und Methode.

Verwendet wurden Pflanzen einer gärtnerischen Linie von *Paeonia tenuifolia* mit normalem meiotischem Verhalten. Ihre Knospen sind unmittelbar vor der Meiosis recht groß und enthalten sehr zahlreiche Antheren. Am Standort wurde in Knospen geeigneter Stadien

mit einer feinen Nadel eine Lösung von m/20 Äthylurethan + m/200 KCl injiziert. Probeinjektionen mit einer Farbstofflösung hatten zuvor ergeben, daß zwei horizontale Einstiche mehr Lösung in die Knospe brachten als zwei senkrecht vorgenommene.

Die Fixierung erfolgte 2 und 4 Tage nach der Injektion in einem Gemisch aus Alkohol: Eisessig = 2,5 : 1 unter Zusatz von Essigsäurekarmin bis zur hellroten Farbe. Es wurden Essigsäurekarmin(EK)-Quetschpräparate hergestellt und zum Teil zu Dauerpräparaten verarbeitet (Marquardt 1947). Die Analyse der karyologischen Wirkung der Lösungen wurde in der Metaphase I vorgenommen.

C. Beobachtungen.

I. Aberrationen in der Meiosis als Folge der Chemikalienwirkung.

a) Die unspezifischen physiologischen Störungen.

Nach einer Röntgeneinwirkung auf die Zellen läßt sich eine Gruppe von Abweichungen aussondern, die durch einen Eingriff in die schon eingeleiteten Teilungen eintreten. Der eine von uns hat dieses Phänomen in seinen früheren Arbeiten (Marquardt 1938) als *Primäraffekt* und später als „unspezifische physiologische Störung" bezeichnet (Marquardt 1948), nachdem sich herausgestellt hatte, daß diese Aberrationstypen auch durch viele Chemikalien oder abnorme Umweltbedingungen ausgelöst werden kann.

Die Injektion traf im Falle einer Fixierung 2 oder 4 Tage nach der Einwirkung den Ruhekern oder gerade noch die ganz frühen Stadien der Meiosis, die Lösung blieb aber dann in den Knospen, da eine Auswaschung nicht mehr möglich war. Es sind daher auch Rückwirkungen des Urethans auf den Teilungsablauf selbst zu erwarten. Bei der gewählten verhältnismäßig geringen Konzentration treten sie aber nicht stark in den Vordergrund: Störungen des Spindelmechanismus, wie mangelhafte Einordnung der Bivalente in die Äquatorialplatte fehlen praktisch vollständig; liegen bleibende, normal konstituierte Chromosomen oder Bivalente sind in der Anaphase eine Ausnahme. Ebenso halten sich Verklebungen und Verklumpungen in der Metaphase in engen Grenzen und beschränken sich höchstens auf einzelne lokale Verklebungen zwischen den Chromosomen verschiedener Bivalente. Die homologen Partner der Bivalente jedoch scheinen in der späten Metaphase und der beginnenden Anaphase dem Auseinanderweichen etwas größeren Widerstand entgegenzusetzen, denn in wenigen Prozent der späten Anaphasen bleiben einzelne auseinanderweichende Bivalente an den Stellen der Chiasmen miteinander verbunden. Derartige Störungen erfolgen aber nicht so häufig, daß eine größere Zahl von Interkinesen oder zweiten Teilungen ihretwegen aberrant wird.

Der auffälligste, zur unspezifisch physiologischen Störung zu rechnende Eingriff des Urethans an den Chromosomen selbst ist eine Lockerung ihres Längszusammenhanges: Vor allem die Centromerregion zeigt dies durch das Auftreten oft sehr starker Verzerrungen im Verlaufe der Metaphase an. Die beiden Schenkel derartiger Chromosomen — vor allem wenn der eine Schenkel bis zu seinem Ende chiasmafrei ist — liegen räumlich oft weit getrennt voneinander und sind nur mit zarten Fäden oder überhaupt nicht mehr sichtbar miteinander verbunden (vgl. Abb. 6, *ST*-Chromosom). Solange noch eine Lagebeziehung zwischen beiden Schenkeln trotz der oft weit auseinander gezerrten Centromerregion erkennbar geblieben ist, haben wir diese Bilder nicht als echte Fragmentationen gewertet.

Häufig wirkt sich aber die Verzerrung auch auf lokal begrenzte Stellen oder auf größere Partien der Chromosomenschenkel zwischen Centromer und Chiasmen aus. Die Erscheinungsform derartiger Störungen ist sehr abgestuft und mannigfaltig. Ist der Längszusammenhang im Chromosom lokal begrenzt gelockert, dann verschmälert sich an der betreffenden Stelle das Chromosom plötzlich zu einem feinen Faden, der je nach der Entfernung der beiden Chromosomensegmente verschieden stark ausgezogen ist, eventuell bis zur Unsichtbarkeit. Oder es ist nur die eine der beiden „Bruchflächen" zugespitzt und ein kurzes Stück fadenförmig, während die andere rechtwinklig abgeschnitten erscheint; die Entfernung zwischen beiden kann wechselnd groß sein. — Die dritte Erscheinungsform besteht in einer von beiden Seiten rechtwinklig begrenzten achromatischen Lücke im Chromosom, die als typische „unvollständige" chromosomale Fragmentation erscheint, wenn der Abstand zwischen den intakten Chromosomensegmenten klein ist. Genau wie bei fadenförmiger Ausziehung kann aber auch hier der Abstand zunehmen (vgl. Abb. 4, *GM*-Chromosom), bis eine scharfe Grenzziehung zwischen „unvollständiger" und „vollständiger" Fragmentation praktisch unmöglich wird. Derartige lokale Veränderungen können in Einzahl oder in Mehrzahl auf einem Chromosomenschenkel in chromosomaler und chromatidaler Ausprägung vorhanden sein.

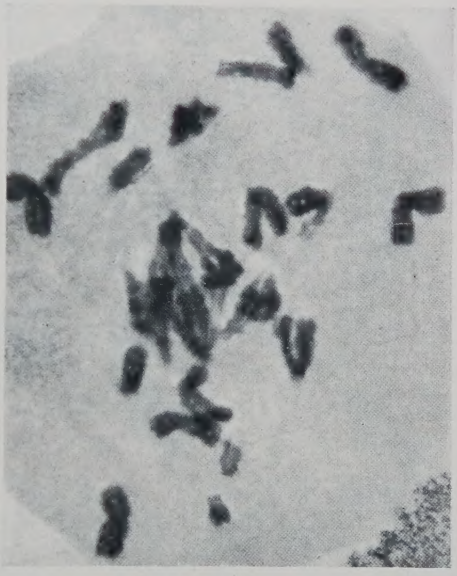


Abb. 1. *Paeonia tenuifolia*, späte Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Weitgehender Zusammenbruch des Chromosomengefüges durch Fragmentation. Vergr. etwa 1500.

Die bisher mitgeteilten Lockerungen des Chromosomengefüges beschränkten sich auf einzelne Chromosomenschenkel; doch ist es in seltenen Fällen auch möglich, daß mehr oder weniger der ganze Chromosomensatz derartige Veränderungen aufweist, durch welche fast alle Chromosomen in einzelne Stücke fragmentiert werden (vgl. Abb. 1). Es läßt sich dabei noch erkennen, daß dieser totale Zusammenbruch erst *nach* der normalen Paarung und Chiasmabildung, d. h. wahrscheinlich im Laufe des Diplotäns oder der frühen Metaphase erfolgte. Ähnliche Zustände wie in Abb. 1 haben wir auch spontan in 0,1% der Zellen beobachtet.

In den Präparaten gehen durch die geschilderten Abstufungen somit Verzerrungen des Centromers oder der Schenkel einerseits und vollständige bzw. unvollständige Fragmentationen andererseits fließend ineinander über. Darum sind nicht in allen Fällen extreme Verzerrungen und wirkliche Fragmentationen voneinander zu unterscheiden. Da sowohl die physiologische wie die Ruhekernstörung die Fragmentation gemeinsam haben, läßt sich für diesen Aberrationstyp eine getrennte quantitative Erfassung beider Wirkungen im Rahmen unserer Untersuchungen nicht vollziehen.

b) Die Ruhekernstörungen.

1. Fragmentationen.

Bei Röntgenversuchen fassen wir unter dem Begriff des Sekundäreffektes diejenigen Abweichungen vom normalen Kernteilungsablauf zusammen, welche nach einer Bestrahlung des ruhenden oder in der frühesten Teilungsphase befindlichen Kerns eintreten. Die Entdeckung von zahlreichen, dieselben

Abb. 2. *Paeonia tenuifolia*, Anaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Fehlteilung des Centromers vom *SM*-Chromosom unter Bildung eines Isochromosoms und zweier Fragmente. *GM* größtes, median inseriertes Chromosomenpaar; *SM* submedian inseriertes; M_1, M_2 kleinere, median inserierte Chromosomen; *ST* subterminal inseriertes kürzestes Chromosom. Vergr. etwa 2000.

Aberrationstypen bewirkenden Chemikalien veranlaßte den einen von uns (MARQUARDT 1948) sie losgelöst von den Besonderheiten einer Röntgenstrahlenbehandlung als *Ruhekernstörungen* neu zu bezeichnen. Sie betreffen fast ausschließlich einzelne Chromosomen und bestehen im wesentlichen aus *Fragmentationen*, wodurch Bruchflächen von ganzen Chromosomen oder Chromatiden zustande kommen, und aus *Rekombinationen*, durch welche die Bruchflächen zu der alten oder einer neuen Konstellation vereinigt werden. So entstehen die verschiedenen Chromosomenumbauten, von denen die *Translokationen* als Rekombinationen zwischen zwei und die *Inversionen*, *Deletionen* und *Duplikationen* als Rekombinationen innerhalb eines Chromosoms die bekanntesten sind.

Wie die Fragmentationen im Übergang aus Verzerrungen gestaltet sind, ist bereits dargestellt worden; hier bringen wir nur die typische Erscheinungsform ohne Beziehung auf sonstige Äußerungen eines gestörten Längszusammenhanges im Chromosom. Trotzdem sind auch hier mannigfaltige Abstufungen möglich.

Vorweggenommen sei eine spezielle Äußerung der Fragmentation, die das Centromer betrifft und durch seine Querteilung senkrecht zur Längsachse eine *Fehlteilung des Centromers* bewirkt. Ist dabei gleichzeitig die sonst normale Längsteilung blockiert, dann entsteht in der Anaphase das bekannte Bild zweier

Abb. 3a u. b. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. a Bivalent mit Halbchromatidfragmentation (Pfeil); b normales Bivalent mit Halbchromatiden zeigenden Endbindungen. Vergr. etwa 2000.

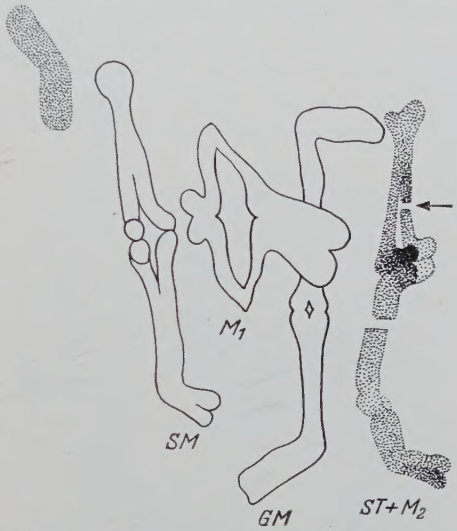


Abb. 4. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Reziproke chromosomale Translokation (Dreierkette + Univalent) zwischen dem *ST*- und *SM*-Chromosom (punktiert). Pfeil = Chromatidfragmentation. Vergr. etwa 2000.

Isochromosomen. Gelegentlich scheint aber zur Querteilung auch noch eine Längsteilung hinzuzukommen, so daß ein Isochromosom und ein Fragment mit zwei selbständigen Chromatiden zustande kommt (Abb. 2, *SM*-Chromosom). Der Zeitpunkt dieser Längsspaltung im Verhältnis zur Querteilung ist dabei nicht bekannt.

Von den übrigen, nicht das Centromer betreffenden Fragmentationen bewirkt die *Halbchromatidfragmentation* den geringsten sichtbaren Effekt. Hier ist nur die Hälfte eines Chromatids durch eine achromatische, kleine Lücke unterbrochen, während der übrige Chromosomenquerschnitt unverändert blieb (Abb. 3a). Die Halbchromatidnatur dieses Aberrationstyps ist dabei gerade an den Chromosomen von *Paeonia* klar zu erkennen, an welchen in guten Präparaten sowohl innerhalb der Schenkel, wie an den Endbindungen oft die Halbchromatiden sichtbar werden (Abb. 3b).

Häufiger als diese verhältnismäßig selten sichtbaren Halbchromatidbrüche sind die *Chromatidfragmentationen*, welche als scharfkantige, helle Lücken eine Chromosomenspalthälfte durchteilen (vgl. Abb. 4, *ST*-Chromosom). Die Breite der achromatischen Lücke wechselt und ihre Sichtbarkeit ist in Grenzfällen

wahrscheinlich auch von dem Fixierungs- und Färbungszustand des Chromosoms sowie dem Grad seiner Flachlegung im Präparat abhängig. Es ist daher praktisch nicht möglich, ihre Anzahl mit völliger Sicherheit zu bestimmen.

Liegen 2 Chromatidbrüche nahe genug beieinander, dann löst sich das zwischen ihnen befindliche Chromosomenstückchen aus dem Verband des Chromosoms heraus (Abb. 5). In den anderen Fällen, besonders bei einfachen chromatidalen Fragmentationen, erfolgt die räumliche Entfernung der azentrischen Bruchstücke von dem Restkörper des Chromosoms erst in der Anaphase; die bisher „unvollständige" Chromatidfragmentation wird zur „vollständigen". Immerhin finden sich aber in der Anaphase Fälle, wo das Chromosom trotz der achromatischen Lücke ohne Verzerrung als Ganzes zu den Polen gezogen wird, als ob gar keine Fragmentation vorläge.

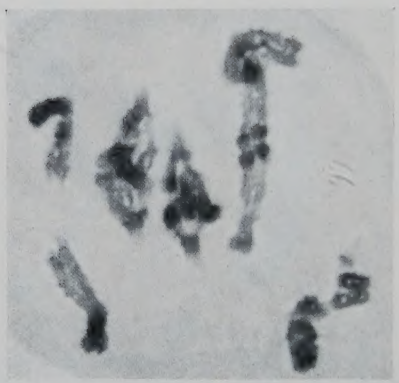


Abb. 5. *Paeonia tenuifolia*, späte Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Zwei Chromatidfragmentationen in dem unteren Univalent eines der *M*-Chromosomen; das Bruchstück liegt etwas oberhalb der Bruchstelle. Vergr. etwa 1500.

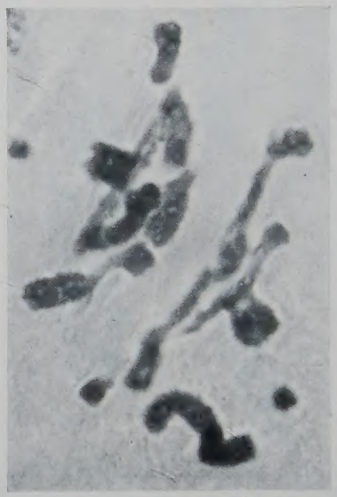


Abb. 6. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Drei vollständige, chromosomale Fragmentationen in dem oberen Chromosom des *SM*-Bivalentes (am unteren Rand der Photographie). Zwei Fragmente liegen getrennt links außen und am oberen Rand der Photographie. Vergr. etwa 1500.

Die *chromosomale Fragmentation*, welche den ganzen Chromosomenquerschnitt durchtrennt, erscheint im typischen Falle als *vollständig*, indem Chromosomenrest und azentrisches Bruchstück räumlich getrennt voneinander liegen (Abb. 6, das *SM*-Chromosom mit 3 Brüchen). Derartige Bruchstücke heften sich gelegentlich mit ihren Enden terminal oder seitlich an andere Chromosomen locker an. Da die Fragmentationen weder die Paarung noch die Chiasmabildung bei *Paeonia* entscheidend beeinflussen, wie einer von uns später noch zeigen wird, so gelingt es den Fragmenten nicht immer, sich von dem normalen, homologen Chromosom zu entfernen, und es können dann durch das zusätzliche Vorhandensein der Chiasmen oftmals recht komplizierte Bilder entstehen.

Die vollständigen chromosomalen Fragmentationen lassen sich im Gegensatz zu den chromatidalen in unseren Versuchen zahlenmäßig exakt erfassen. Infolge der Identifizierbarkeit der Bivalente und ihrer auch unter Urethaneinwirkung normalen Paarung können ferner die Brüche gut lokalisiert werden. Nur die kleinen Kugelfragmente, welche meist wohl interkalare Deletionen, d. h. 2 Bruchaberrationen darstellen, machen hiervon eine Ausnahme.

Die *unvollständigen chromosomalen Fragmentationen*, bei denen die räumliche Trennung von Chromosom und Bruchstück nicht vollständig ist, erscheinen in großer Mannigfaltigkeit, besonders deshalb, weil hierher die Brüche zu rechnen sind, die im Anschluß an bestimmte Erscheinungen der unspezifischen physiologischen Störung auftreten. Hat nämlich eine daraus erfolgte Verzerrung der Chromosomen einen bestimmten Grad überschritten, dann ist zwischen dem zerrenden Centromer und dem nächsten der lokalisierten Chiasmen überhaupt keine Verbindung mehr sichtbar, nur die Lage deutet auf einen Rest unsichtbaren Zusammenhaltes.

Ebenso wie bei den chromatidalen Fragmentationen finden sich auch hier scharf begrenzte achromatische Lücken, nur daß sie in diesem Fall das ganze Chromosom durchteilen. Sie können in der Anaphase entweder zu vollständigen Fragmentationen führen oder ohne wesentliche Breitenzunahme eine normale Polwanderung zulassen. Fast alle Brüche dieser Gruppe sind durch Übergangsbilder mit dem Normalzustand verbunden und ihre Ausprägung scheint wieder von dem Grad der Flachlegung der Zelle im Präparat und der Färbungsintensität mitbestimmt zu werden. So ist diese Gruppe von Aberrationen zahlenmäßig wieder nicht genau genug zu erfassen.

Abb. 7. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Reziproke chromosomale Translokation (Viererring) zwischen zwei *M*-Chromosomen (zweite Chromosomengruppe von links). Vergr. etwa 2000. (Mit Einverständnis von H. MARQUARDT bereits in OEHLKERS 1949, S. 31 publiziert.)

2. Die Rekombinationen.

a) Chromosomale und chromatidale Translokationen. Eine Rekombination zwischen Bruchstellen *verschiedener* Chromosomen, durch welche ein Austausch von Chromosomen- oder Chromatidsegmenten stattfindet, wird als reziproke Translokation bezeichnet. Wenn dabei gleichartige Bruchstellen — entweder nur chromosomale oder nur chromatidale — miteinander reagieren, entstehen die chromosomalen bzw. chromatidalen Translokationen zwischen zwei, unter Umständen auch zwischen mehr Chromosomen.

Am einfachsten in der Meiosis zu identifizieren sind die *chromosomalen Translokationen* zwischen 2 Chromosomen. Da neben den beiden, mit einer Translokation versehenen Chromosomen noch zwei unveränderte, homologe in dem Kern vorhanden sind, kommt es nach einer Kreuzpaarung im Pachytän zu einem Viererring (Abb. 7). Sind nicht in allen sich paarenden Endsegmenten der 4 Chromosomen Chiasmen zustande gekommen, können andere Bilder entstehen.

So ist in Abb. 4 eine zwischen dem *M*- und *ST*-Chromosom erfolgte Translokation zu sehen, die durch Chiasmaausfall in dem kurzen Schenkel des *ST*-Chromosoms als Dreierkette und Univalent erkennbar wird.

Nicht nur als Konfigurationen, sondern auch begrifflich machen die *chromatidalen Translokationen* in der Meiosis größere Schwierigkeiten. Chromatidaustausch, d. h. Bruch und kreuzweise Rekombination an *identischen* Stellen homologer Chromosomen bezeichnen wir als Chiasmen. Sie sind ein normaler Vorgang und haben mit induzierten Aberrationen nichts zu tun. Vollzieht sich die Rekombination aber zwischen Bruchflächen von Chromatiden nichthomologer Chromosomen, dann entstehen die Chromatidtranslokationen, die man natürlich auch in Analogie zum Normalverhalten als Chiasmen zwischen nichthomologen

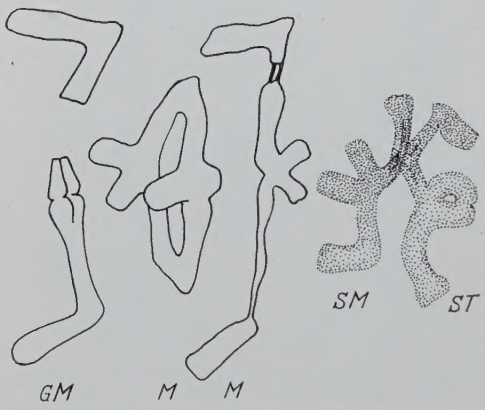


Abb. 8. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Reziproke Chromatidtranslokation in den langen Schenkeln des *SM*- und *ST*-Bivalents (punktierte Bivalente). Vergr. etwa 2000.

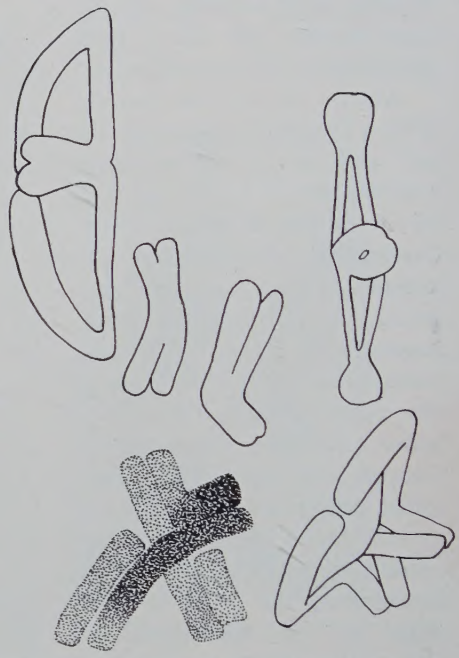


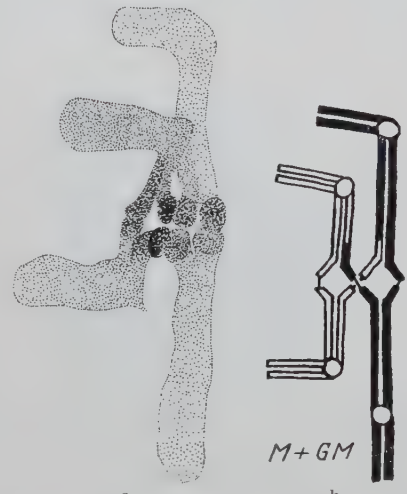
Abb. 9. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Unvollständige reziproke Chromatidtranslokation zwischen zwei homologen *M*-Chromosomen (punktiert). Vergr. etwa 2000.

Chromosomen bezeichnen kann. Einer von uns hat bereits 1937 nach einer Röntgenbestrahlung der Meiosis auf die in dieser Hinsicht bestehende Schwierigkeit hingewiesen (vgl. MARQUARDT 1937). Da nun entsprechende Bilder in unbehandelten Meiosen von *Paeonia* — also spontan — nicht oder nur sehr selten vorkommen, müssen wir sie als induzierte Aberrationen werten; um das klar zum Ausdruck zu bringen, entscheiden wir uns für die Bezeichnung „Chromatidtranslokationen". Eine ausführliche Diskussion dieser Frage findet sich bei OEHLKERS und LINNERT (1949). Einen klaren Fall dieser Art enthält der in Abb. 8 dargestellte Kern. In diesem ist median auf den langen Schenkeln des *SM*- und *ST*-Chromosoms eine chromatidale Translokation eingetreten. Die Paarung der betroffenen Chromosomen mit ihren Homologen ist dadurch nicht gestört worden.

In den meisten Fällen verlaufen die Rekombinationsvorgänge unter zwei überhaupt miteinander in Reaktion tretenden Chromosomen so vollständig ab, daß alle in diesem System vorhandenen Bruchflächen auch davon ergriffen werden.

Vereinzelt jedoch finden sich auch „Partialrekombinationen", wie sie für Röntgenaberrationen schon länger bekannt sind. Abb. 9 zeigt zwei miteinander reagierende Chromosomen, bei denen freie Bruchflächen unrekombiniert übrigbleiben. Übrigens ist in diesem Fall auch die Chiasmenbildung mit dem homologen Chromosom unterblieben.

Als Folgeerscheinungen chromatidaler Translokationen sind nun auch die Konfigurationen aufzufassen, bei welchen Paare von Chromatiden nichthomologer Chromosomen im Sinne von terminalisierten „Quadrivalentkonfigurationen" lagemäßig eng zusammengeschlossen sind, so wie die beiden in Abb. 10a dargestellten Bivalente zeigen. Die in Abb. 10b beigegebene Strichzeichnung erläutert, daß das Bild als eine subterminale Chromatidtranslokation interpretiert werden kann, welche nicht lokalisiert geblieben ist, sondern so, wie viele normale subterminale Chiasmen bei *Paeonia*, terminalisierte. Die Berechtigung zu einer derartigen Deutung sehen wir darin, daß in unserem umfangreichen Material alle Zwischenstufen von subterminalen, lokalisiert liegengebliebenen Chromatidtranslokationen bis zu dem gezeichneten terminalisierten Beispiel vorhanden sind. Diese Deutung setzt freilich voraus, daß die Terminalisation über den Translokationspunkt hinausgeht, was nach Darlington (1937) nicht möglich sein soll, weil hier jeweils ein Homologiewechsel vorliegt. Nun hat aber der eine von uns (Marquardt 1948) zeigen können, daß für *Oenothera* in einem Fall eine Terminalisation über den Translokationspunkt hinaus gegeben ist. So dürfte wohl das von Darlington formulierte Verbot nicht mit solcher Allgemeingültigkeit zutreffen, daß sich daraus ein Einwand gegen diese Interpretation ableiten ließe.



a b

Abb. 10a u. b. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Subterminal erfolgte reziproke Chromatidtranslokation zwischen einem *M*- und dem *GM*-Chromosom. a Zeichnung; b Schema. Vergr. etwa 2000.

Die bisher betonte Übersichtlichkeit der Konfigurationen ist nur vorhanden, wenn die Chromatidtranslokationen in einigem Abstand von den Chiasmen liegen; ist aber der Abstand gering, dann ist der Chromatidverlauf oft nur mit großer Mühe zu entwirren. Ebenso machen Translokationen zwischen mehr als 2 Chromosomen in der Meiosis große Schwierigkeiten bei der Analyse, da durch die bestehenbleibende Paarungstendenz drei oder mehr Bivalente zu einer Einheit zusammengeschlossen werden. So ist es beispielsweise nicht gelungen, den Chromatidverlauf für den Fall der Abb. 11 zu entwirren.

Gelegentlich hängen auch nichthomologe Chromosomen durch dünnere Verbindungen untereinander zusammen als durch Chromatiden, wobei es sich mit Sicherheit nicht um verzerrte Oberflächenverklebungen handelt. Eine exakte Identifikation des Chromatid- bzw. Halbchromatidverlaufs ist jedoch in keinem Fall gelungen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese Bilder Halbchromatidtranslokationen darstellen, weil wir in unserem Material mit Bestimmtheit eine

Halbchromatidtranslokationsfigur finden konnten, wie der folgende Abschnitt zeigen wird.

b) Laterale Translokationen. Während bei den bisher behandelten Translokationen stets nur gleichartige Bruchstellen — entweder chromatidale oder chromosomale — miteinander rekombinierten, können wir im folgenden zeigen, daß sich auch *ungleichartige* Bruchstellen — also chromatidale mit chromosomalen — zu den sog. *lateralen* Translokationen vereinigen. Im einfachsten Fall ist an das chromatidal gebrochene Chromosom seitlich die eine Hälfte des chromosomal fragmentierten Chromosoms angeschlossen, die andere Hälfte stellt ein selbständiges chromosomales Fragment dar. So ist der centromer-

Abb. 11. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Komplexe, im Chromatidverlauf nicht entwirrte Translokationen zwischen den Chromosomen dreier Bivalente. Vergr. etwa 1200.

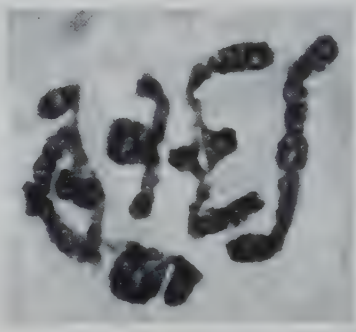


Abb. 12. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Laterale Translokation zwischen einem *M*-Chromosom (ganz links) und dem *SM*-Chromosom. (Rest des *SM*-Chromosoms unterhalb der Äquatorialplatte, nicht eingeordnet.) Vergr. etwa 1500.

führende Teil des *SM*-Chromosoms in dem Kern der Abb. 12 chromosomal fragmentiert, und seitlich an das chromatidal gebrochene *SM*-Chromosom transloziert. Der andere Teil des Chromosoms hat sich mit dem Homologen normal gepaart und liegt etwas außerhalb der Äquatorialplatte.

Obwohl laterale Translokationen wesentlich seltener als reziproke Translokationen sind, haben wir dennoch in unseren Präparaten eine laterale Translokation zwischen einem Halbchromatid und einem chromosomalen Bruch gefunden, welche wahrscheinlich als partielle, d. h. freie Bruchflächen führende Rekombination aufgefaßt werden muß (Abb. 13). Durch das stets vorhandene starke Auseinanderweichen der Chromatiden in der späten Metaphase und frühen Anaphase ist die Konfiguration so übersichtlich geworden, daß an der Richtigkeit der Deutung nicht gezweifelt werden kann. *Wir haben somit hier den ersten klaren Fall einer Halbchromatidtranslokation vor uns.*

Eine laterale Translokation zwischen 2 Chromosomen ist in unserem Material praktisch immer als solche identifizierbar und die Lokalisation der Brüche kann gleichfalls angegeben werden. Sind ungleichartige Brüche von mehr als zwei Chromosomen durch Rekombination zusammengeschlossen, dann ist freilich die Gefahr der Ausschaltung dieser stets schwierigen lateralen Translokationskonfigurationen als „nicht analysierbar" wesentlich größer als bei den chromatidalen und chromosomalen Translokationen.

c) Rekombinationen innerhalb eines Chromosoms. Ebenso wie Rekombinationen zwischen Bruchstellen verschiedener Chromosomen sind derartige Vorgänge auch

zwischen Bruchstellen innerhalb *eines* Chromosoms möglich. Je nach der Art der Bruchstellen — chromatidal oder chromosomal — und ihrer Lage — innerhalb eines Schenkels oder auf verschiedenen Schenkeln — ergeben sich sehr verschiedene Bilder, die durch einen von uns für röntgeninduzierte Aberrationen systematisch entwickelt und zusammengestellt worden sind (Marquardt 1941, 1949). Eine große Zahl von ihnen ist in der Metaphase der Meiosis nicht zu fassen, da sich die Ausgangslage nicht notwendig erhalten muß; an dieser könnte wenigstens ein Teil derartiger Umbauvorgänge erkannt werden. Wenn keine Gestaltänderungen an den betroffenen Chromosomen eintreten, wird ferner eine erfolgte Rekombination durch einen Paarungsausfall unsichtbar bleiben, in anderen Fällen wird sie gerade durch eine Paarung unanalysierbar. So lassen sich nur wenige Typen *chromatidaler* Aberrationen innerhalb eines Chromosoms in der Metaphase identifizieren, am leichtesten davon die Ring- und Deletionskonfiguration zwischen verschiedenen Schenkeln (Abb. 14) und in der Anaphase die nach chromosomaler Fragmentation gelegentlich eintretende Schwesterchromatidrestitution.

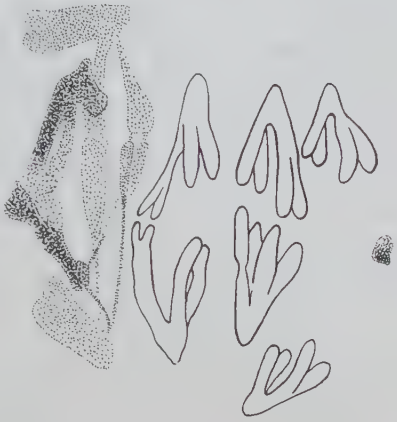


Abb. 13. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Laterale Halbchromatidtranslokation zwischen *GM*- und *ST*-Chromosomen (beide Bivalente links außen, punktiert); Fragment des kurzen Schenkels des unteren *ST*-Chromosoms rechts. Vergr. etwa 2000. (Mit Einverständnis von H. Marquardt bereits in Oehlkers 1949, S. 32 publiziert.)

Gegenüber den Translokationen, welche praktisch vollständig in der Metaphase der Meiosis gefaßt werden können, erkennen wir daher von den Rekombinationen innerhalb eines Chromosoms nur einen Bruchteil. Zwar wäre es möglich, in der Anaphase diejenigen Inversionen noch zu zählen, welche in sich eine Chiasmabildung mit daraus entstehender bizentrischer Brücke mit Fragment zugelassen haben. Leider finden wir aber auch in den Kontrollen stets Knospen, in denen Inversionsbrücken vorhanden sind. Gerade diese Figuren können also darum nicht mit Sicherheit als Folgen einer Urethanbehandlung aufgefaßt werden.

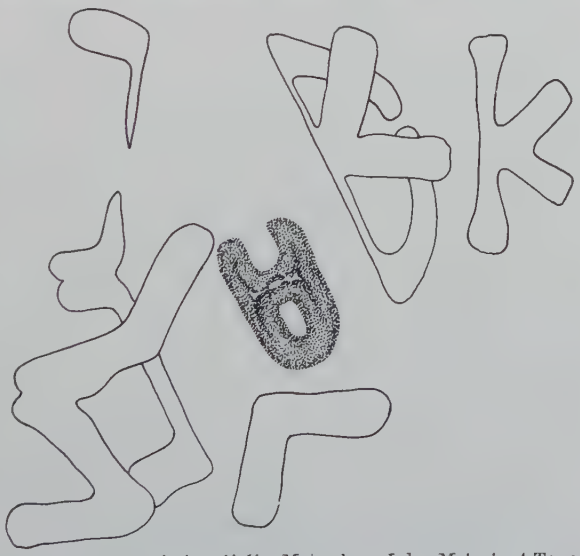


Abb. 14. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Injektion. Zwei-Bruch-Restitution innerhalb eines univalenten *GM*-Chromosoms (punktiert). Vergr. etwa 2000.

Somit ist also bei *Paeonia* nicht nur eine Identifikation der durch chromosomale und chromatidale Translokationen zusammengeschlossenen Chromosomen

möglich, sondern auch noch eine Lokalisation des Bruchortes. Eine in anderen Fällen stets drohende Verwechslungsmöglichkeit besonders zwischen chromatidalen Translokationen und Verklebungen besteht hier nur in untergeordnetem Maße, da die Chromatiden auch in den späteren Stadien vielfach sichtbar sind und dann eine sichere Entscheidung möglich ist. Zweifelsfälle, die dennoch gelegentlich vorkommen, werden stets fortgelassen, besonders aus dem Bereich quantitativer Überlegungen, über die der eine von uns (Marquardt) später noch berichten wird.

II. Aberrationen in der Meiosis als Folge von Röntgenbestrahlungen.

Die Röntgenbestrahlung, die lediglich dem Vergleich zwischen meiotischen und mitotischen Aberrationen diente, wurde mit 63 kV, 4 mA, ungefiltert durchgeführt, wobei das Objekt in 20 cm Abstand von der Kathode 63 sec mit der Gesamtdosis von 300 r bestrahlt wurde. Die nach 4 Tagen, d. h. in demselben Abstand wie nach den Urethaninjektionen vorgenommenen Fixierungen zeigten relativ starke Störungen der Meiosis, welche diejenigen des Urethan-KaCl-Gemisches weit übersteigen. Vielfach ist sogar eine Analyse der eingetretenen Veränderungen nicht mehr möglich gewesen, weil die aufgefundenen Konfigurationen in ihrer Komplikation zu vieldeutig waren.

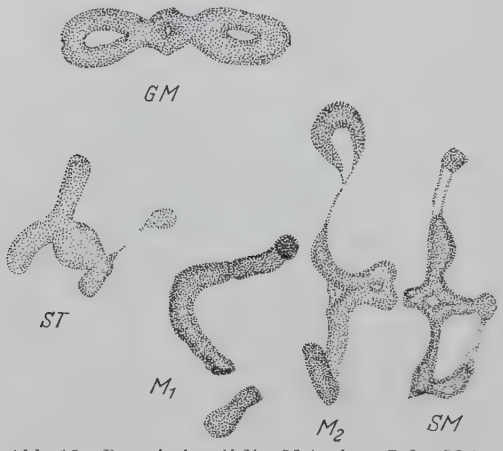


Abb. 15. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis, 4 Tage nach Röntgenbestrahlung mit 300 r. Verzerrungen des Centromers in den oberen Chromosomen der *ST*- und *SM*-Bivalente. Chromosomale Fragmentation im unteren Chromosom des M_1-Bivalents. Verzerrung eines Schenkels im oberen Chromosom des M_2-Bivalentes. Verklebung des Chromosomenendes des oberen Chromosoms im M_2-Bivalent mit der Verzerrungsstelle des anderen Schenkels. Verzerrungen im unteren Chromosom des *SM*-Bivalentes schwer zu deuten (wahrscheinlich Centromerverzerrung, Verklebung des kurzen Schenkelendes mit dem anderen Chromosomenende, chromatidale unvollständige Fragmentation in dem unteren langen, leicht verzerrten Schenkel).

Bei dem Röntgenversuch ist außer dem Auftreten der erwarteten Ruhekernstörung ein sehr starkes Vorherrschen der unspezifischen physiologischen Störung auffällig, obwohl die Bestrahlung nicht den aktuellen Ablauf, sondern den Ruhekern oder die Übergangsphase in die Teilung (Leptotän) getroffen hat. Neben den vom Urethanversuch her bekannten Verzerrungen des Centromers und den Folgen der Auflockerung des Längszusammenhanges im Chromosom spielen auch Verklebungen der Chromosomen innerhalb und zwischen den Bivalenten eine sehr große Rolle. Hierdurch erscheint die Fragmentation noch weniger als bei den Urethanversuchen als selbständiges Phänomen: So ist in Abb. 15 nur die chromosomal vollständige Fragmentation im M_1-Chromosom selbständig: die unvollständige Fragmentation im *SM*-Chromosom, die eine auffällige Knickung des betroffenen Schenkels bewirkte, scheint in Zusammenhang mit der eigentümlichen Verklebung der beiden Chromosomen zu stehen. Eine weitere Verklebung eines Chromosomenendes mit einem Segment desselben Schenkels,

welches von einer Verzerrung betroffen ist, hat in dem oberen Chromosom des M_2-Chromosoms stattgefunden.

Ein durchaus nicht außergewöhnliches Bild der Kombination zahlreicher Umbauvorgänge mit physiologischen Störungen bringt Abb. 16. Allein das M_1-Bivalent ist unverändert geblieben: die übrigen 4 Bivalente sind durch Fragmentationen, Umbauten in Kombination mit Verklebungen und Verzerrungen nicht mehr analysierbar.

Selbst so extrem veränderte Metaphasen bleiben nur in seltenen Fällen auf diesem Stadium liegen; meistens gehen auch sie in die Anaphase über, die ihrer-

Abb. 16. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis. 4 Tage nach Röntgenbestrahlung mit 300 r. Nur ein Bivalent identifizierbar, die übrigen durch Fragmentationen, Umbauten, Verzerrungen und Verklebungen nicht analysierbar. Vergr. etwa 1200.

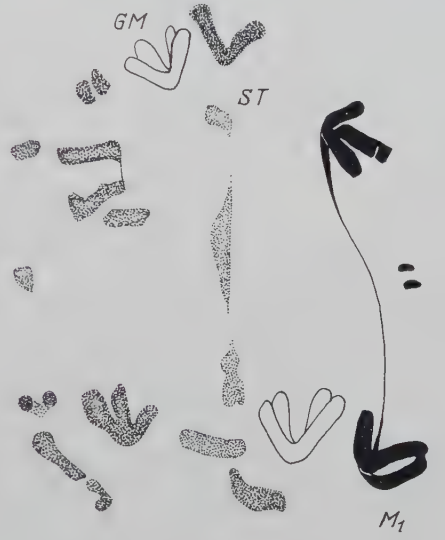


Abb. 17. *Paeonia tenuifolia*, Metaphase I der Meiosis. 4 Tage nach Röntgenbestrahlung mit 300 r. *GM*(?)-Chromosom unverändert (weiß gezeichnet). M_1-Bivalent mit Inversionsbrücke + Fragment (schwarz gezeichnet). *ST*(?)-Bivalent mit subterminaler Verklebung, übrige Chromosomen nicht mehr analysierbar. Vergr. etwa 1200.

seits je nach dem Grad der vorher schon eingetretenen Aberrationen mehr oder weniger gestört sein kann. Die auch spontan in dieser Phase vorhandene Neigung zur Verzerrung des Centromers wird nach Röntgenbestrahlung gesteigert, so daß zusammen mit Schenkelverzerrungen, Fragmentationen, Verklebungen und Umbauten die Anaphase noch stärker als die Metaphase aberrant erscheint. Sehr zahlreiche Anaphasen kommen daher dem Zustand der Metaphasen nahe, den wir bei der Besprechung insbesondere der Urethanversuche als totale Zusammenbrüche des Chromosomengefüges bezeichnet haben (Abb. 17, vgl. Abb. 1). Ein bizentrisches Chromatid ist in der gezeichneten Zelle in dem unten rechts liegenden M_1-Chromosom durch eine Inversion vorhanden; das in der Mitte liegende, brückenbildende Chromosom ist wahrscheinlich im subterminalen Chiasma unlösbar verklebt. Das *GM*-Chromosom(?) erscheint als einziges normal, während die übrigen in Centromer und Schenkeln zur Unkenntlichkeit fragmentiert sind.

Zusammenfassend zeigt diese kurze Darstellung röntgeninduzierter Aberrationen in der Meiosis somit, daß die Übertragung der für die Mitosis aufgestellten Aberrationstypen und ihre Gliederung in physiologische und Ruhekernstörungen auf die Verhältnisse in der Meiosis durchaus zu Recht besteht. Verglichen mit der Pollenmitose von *Bellevalia* (Marquardt 1939, 1941) und von *Tradescantia* (Sax 1938, 1939, 1941) erscheint die Meiosis von *Paeonia* viel empfindlicher gegen Röntgenstrahlen. Ob das starke Vorherrschen von unspezifisch physiologischen Störungen neben den Aberrationen der Ruhekernstörung trotz der Bestrahlung im Ruhekern bzw. in den frühesten meiotischen Stadien eine Folge der hohen Dosis darstellt, oder auf einer besonderen Eigenschaft der Meiosis beruht, bedarf noch weiterer Untersuchung. Da die verwendete Röntgendosis sich bei der Meiosis von *Paeonia* um so viel wirksamer als die Urethankonzentration erwiesen hat, ist ein Vergleich der Effekte beider Agenzien nicht möglich; es müßten hierzu weitere Bestrahlungsversuche mit wesentlich niedrigerer Dosis vorgenommen werden.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Für die Mutationsauslösung durch Chemikalien ist bei den Pflanzen, insbesondere bei den allein in letzter Zeit daraufhin untersuchten höheren Pflanzen die Applikationsweise von entscheidender Bedeutung, und die jüngsten Erfolge des hiesigen Instituts sind darauf zurückzuführen, daß hier im Gegensatz zu früheren Versuchen die wirksamen Substanzen durch den Transpirationsstrom den Infloreszenzen zugeleitet werden. Demgegenüber ist es von Interesse, daß es nun auch gelungen ist, durch Injektion in die Knospen Veränderungen in den Chromosomen der Pollenmutterzellen zu erzielen, quantitativ durchaus in derselben Größenordnung wie bei der erstgenannten Anwendungsweise. Das bedeutet, daß in diesem Fall die Substanzen von außen durch die Antherenwandung diffundieren und auch auf diesem Wege bis zu den Pollenmutterzellen gelangen können. Freilich muß darauf hingewiesen werden, daß dieses Verfahren nicht bei allen Objekten verwendbar ist. Die Brauchbarkeit von *Paeonia* hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß die Knospen sehr groß und mit offenbar genügendem Hohlraum zwischen den zahlreichen Antheren versehen sind, so daß eine hinreichende Menge Substanz an das reduzierende Gewebe herankommt. Parallelversuche mit Knospeninjektion bei *Oenothera* haben keinerlei Erfolge gezeigt.

Der Befund, daß noch ein weiteres Objekt ebenso wie die bisher untersuchten auf die Behandlung von Urethan anspricht und ähnliche Aberrationen im chromosomalen Gefüge erscheinen läßt wie nach Einwirkung von Röntgenstrahlen, ist ebenfalls von Bedeutung. Was nun die Aberrationen selbst anlangt, so sind, wie aus dem empirischen Teil ersichtlich, sowohl physiologische wie Ruhekernstörungen aufzufinden, durchaus vergleichbar mit der Röntgeneinwirkung. Angesichts der Tatsache jedoch, daß das Urethangemisch höchstwahrscheinlich eine längere aber nicht genau abzuschätzende Zeit in den Knospen bleibt, läßt sich nichts genaueres darüber aussagen, ob eine Verteilung der beiden Störungstypen mit der Einwirkung auf die laufende Meiosis oder mit der Einwirkung auf die prämeiotischen Zustände in Zusammenhang zu bringen ist. Das ist um so weniger möglich, als sich herausgestellt hat, daß auch bei der zeitlich genau

lokalisierten Einwirkung von Röntgenstrahlen nach dem Verlauf von 4 Tagen noch ein sehr hoher Prozentsatz von physiologischen Störungen bei *Paeonia* vorhanden ist.

Nach Röntgen- wie nach Urethanbehandlung wird die Paarung und die Chiasmenbildung auffällig wenig gestört; zwar erfolgen bei *Paeonia* und *Oenothera* geringe Verschiebungen in der Chiasmenfrequenz, die sich aber sogar in den aberrationenführenden Zellen in relativ engen Grenzen halten. Selbst so extreme und seltene Zerstörungen des Chromosomengefüges wie in Abb. 1 scheinen erst nach Ablauf einer normalen Paarung und Chiasmenbildung begonnen zu haben. Dasselbe Verhalten läßt sich aus den Untersuchungen von Darlington und Koller (1947)[1] über Senfgaswirkung auf die Meiosis von *Tradescantia* entnehmen und es scheint auch bei den Röntgeneinwirkungen ebenso zu sein. Wahrscheinlich kommt daher der Feststellung eine allgemeine Gültigkeit zu, daß nämlich *experimentell ausgelöste Chromosomenaberrationen in ihren Wirkungen das normale Paarungsverhalten der homologen Chromosomen lediglich überlagern, nicht aber wesentlich erschüttern können.*

Auffällig für die Reaktion der Meiosis von *Paeonia* auf das Urethan-Kaliumchloridgemisch ist die fließende Grenze zwischen Verzerrungen des Chromosoms und vollständigen bzw. unvollständigen Fragmentationen. Während in einer mitotischen Metaphase eine sichere quantitative Erfassung chromatidaler, fast stets unvollständiger Fragmentationen leicht gelingt, ist sie durch die Verzerrungen in der meiotischen Metaphase von *Paeonia* nicht möglich. Allein die vollständigen, chromosomalen Brüche lassen sich genau genug bestimmen. Trotz dieser Unsicherheit besteht kein Zweifel darüber, daß diese Gruppe von Aberrationen gegenüber den Rekombinationen stark im Vordergrund steht. Dasselbe gilt auch für die Auswirkung einer Röntgenbestrahlung, bei welcher allerdings durch die Verklebungstendenz der Chromosomen noch eine weitere Komplikation in der Analyse hinzukommt.

Das zahlenmäßige Vorherrschen von Fragmenten bei *Paeonia* steht in Widerspruch zu den bisherigen Befunden an *Oenothera*, nach denen die Fragmentationen gegenüber den Rekombinationen auffällig zurücktreten. Über diese Fragen sind eine Reihe von Untersuchungen aus unserem Institut noch im Gang. Neben anderen Momenten ist für dieses unterschiedliche Verhalten die Verschiedenheit im Bau der Chromosomen von beiden Pflanzen verantwortlich zu machen. Diese sind bei *Paeonia* euchromatisch, bei den *Oenotheren* dagegen partiell heterochromatisch.

Paeonia besitzt zahlreiche, teils lokalisierte, teils nur unvollständig oder erst in der späten Metaphase terminalisierende Chiasmen. Es macht daher keine Schwierigkeit, unter den ausgelösten Rekombinationen, d. h. vor allem den Translokationen, zwischen chromosomalen und chromatidalen Umbauten zu unterscheiden. In dem gewählten Abstand von der Urethaninjektion herrschen die *chromatidalen Translokationen* über die chromosomalen vor. Eine ähnliche Überlegung haben wir schon anläßlich unserer Oenotherenuntersuchungen

[1] Die vorliegende Arbeit war Ende 1944 bereits abgeschlossen. Infolge der ungünstigen Zeitverhältnisse verzögerte sich die Publikation. So ist es uns nunmehr möglich, auf die uns inzwischen bekannt gewordene Literatur nachträglich noch kurz einzugehen.

angestellt, wobei die Entscheidung hier wegen der Besonderheiten im Ablauf der Meiosis weitaus schwieriger und nur auf indirektem Wege möglich ist.

Die deutliche Gliederung der *Paeonia*-Chromosomen nicht nur in Chromatiden sondern gelegentlich sogar in Halbchromatiden erlaubte uns eine *sichere Halbchromatidtranslokation* zu beobachten. Meiotische Chromosomen haben somit auch die Fähigkeit zu Rekombinationsvorgängen an Halbchromatiden, deren Bereitschaft zu Fragmentationen schon früher festgestellt wurde (Nebel 1931, Marquardt 1941a u. b). Trotz ihrer Seltenheit, welche wahrscheinlich durch die Feinheit dieser Strukturen und ihre schwierige Analysierbarkeit sekundär erhöht wird, kommt diesem Befund in 2 Richtungen eine besondere Bedeutung zu.

Zunächst haben im chromatidalen Bereich die Chromatidtranslokationen zwischen nichthomologen Chromosomen eine mindestens äußerliche Ähnlichkeit mit den Chiasmen als „Chromatidtranslokationen zwischen den gepaarten Segmenten homologer Chromosomen". Diese Ähnlichkeit wird durch die Rekombinationsfähigkeit von Chromatidbruchflächen hervorgerufen, wie sie in irgendeiner Form auch bei der Chiasmabildung vorhanden sein muß, obwohl beide Vorgänge wahrscheinlich der Entstehungsweise nach höchst verschieden sind. Wenn wir aber jetzt auch im Bereich der Halbchromatiden dieselbe Rekombinationsfähigkeit der Bruchflächen vorfinden, dann ist der Gedanke naheliegend, daß eventuell auch Halbchromatid-Chiasmen möglich sein könnten. Wir haben in unseren zahlreichen Auszählungen von Kontrollzellen bereits auf das Vorhandensein entsprechender Bilder geachtet, ohne bis jetzt einen genügend eindeutigen der vermutlich seltenen Fälle dieser Art gefunden zu haben. Doch hat Greis (1941, S. 42) im Ascus von *Sordaria* Sporenanordnungen gefunden, die auf eine sog. „Reduktion in der dritten Ascus-Teilung" hinweisen, ein Phänomen, welches am einfachsten als Folge eines Halbchromatidchiasmas verstanden werden kann. Wir halten es daher nicht für ausgeschlossen, daß die Durchsicht der umfangreichen zytogenetischen Daten, welche an den verschiedensten Objekten erarbeitet worden sind, weitere Anhaltspunkte für ein Vorkommen von Halbchromatidchiasmen liefern könnte.

Ferner erscheint uns die Fähigkeit von Urethan, Chromatid- und selbst Halbchromatidaberrationen auszulösen, für das Verständnis bestimmter genetischer Effekte von Senfgas auf *Drosophila* von Bedeutung zu sein. Auerbach (1946, 1947) und Auerbach, Robson und Carr (1947) stellten an verschiedenen Mutationstypen fest, daß nach Senfgas die Zahl der mosaikartigen Manifestationen des Mutationsschrittes besonders häufig war. Sie schließen daraus, daß durch die Chemikalienbehandlung ein Gen „instabil" werden könne und nicht sofort im Sperma oder in der ersten Eiteilung nach der Befruchtung mutiere, sondern erst im Laufe einer der späteren Teilungen. Daraus resultiere dann die beobachtete Mosaiknatur einzelner Organe, indem die Nachkommen der verspätet mutierten Zellen eine Gewebepartie mit einer anderen genetischen Konstitution als das übrige Zellmaterial bilden. Die Autoren wurden zu dieser rein genetisch orientierten Interpretation dadurch geführt, daß bisher im *Drosophila*-Sperma zwar seltene chromatidale Aberrationen mit genetischen Methoden festgestellt werden konnten, daß aber für die Möglichkeit von Halbchromatidabänderungen noch keinerlei unmittelbare Anhaltspunkte vorlagen.

Wenn man auch nicht ohne weiteres die Erfahrungen an urethanbehandelten, reduzierenden Zellen von *Paeonia* auf Spermien von *Drosophila* nach Senfgaseinwirkung übertragen kann, so läßt sich doch auf Grund unserer Befunde eine zytologische Interpretation von einer gewissen Anschaulichkeit an Stelle der Hypothese einer zeitlich begrenzten Genlabilität finden. Sie hat vor allem ihre Berechtigung in der Tatsache, daß über den Spaltungszustand der Chromosomen im Spermakopf von *Drosophila* nur sehr schwer direkt gültige Aussagen möglich sind.

Chromatidale Veränderungen in einem Kern lassen nach seiner ersten, halbchromatidale Veränderungen nach seiner zweiten Teilung Tochterkerne entstehen, die in günstigen Fällen nachweisbar genetisch verschieden sind und bei weiteren Teilungen zu den beobachteten Mosaiken Anlaß geben. Tritt nun, wie in diesen Versuchen beobachtet wurde, in noch späteren Teilungsschritten erstmals eine derartige genetische Verschiedenheit der Tochterkerne auf, dann müßte es sich unter den von uns entwickelten Gesichtspunkten um Manifestationen von zytologischen Veränderungen an weiteren Untergliederungen des Chromosoms handeln. Für eine solche Annahme von Viertel-, Achtel- usw. Chromatiden und von ihrer Reaktionsfähigkeit gegenüber physikalischen und chemischen Agenzien liegen aber bereits Anhaltspunkte vor: So erlaubte die lichtmikroskopische Analyse des Chromosoms von *Bellevalia romana* eine photographische Darstellung von Viertelchromatiden (Marquardt 1941 b). Damit ist die Grenze lichtmikroskopischer Auflösung vermutlich erreicht. Da es wenig wahrscheinlich ist, daß an dieser Schwelle auch die Längsaufteilung des Chromosoms endet, steht der Annahme von Achtel-, Sechzehntel- usw. Chromatiden im submikroskopischen Bereich nichts im Wege.

Ferner haben wir sowohl nach Röntgen- wie nach Urethanapplikation eine selbständige Reaktionsmöglichkeit sämtlicher sichtbarer Längselemente im Chromosom feststellen können. Daß diese Fähigkeit auch den im submikroskopischen Gebiet liegenden Unterteilungen zukommt, stellt einen leicht vollziehbaren Analogieschluß dar, der durch die Tatsache an Wahrscheinlichkeit gewinnt, daß die genetisch manifest werdenden Veränderungen nach Senfgasbehandlung kaum große Translokationen oder Inversionen, sondern minute deletions und minute rearrangements sind (Slizinski und Slizinska 1947).

Schließlich ist auch der Befund des auffallend lange Zeit anhaltenden Vorhandenseins von Fragmenten nach Röntgenbestrahlungen von *Allium*-Wurzelspitzen hier bedeutungsvoll (Sax 1941). In dem intensiv sich teilenden Gewebe finden sich bis 4 Tage nach der Bestrahlung Fragmentationen. Da sie meist bereits in der Teilung, in welcher sie erstmals auftreten, durch ihre mangelnde Bewegungsfähigkeit ausgeschaltet werden, müssen sie in diesem 4tägigen Zeitraum entweder über mehrere Teilungsschritte durchgeschleppt worden sein, oder die betreffenden Kerne haben sich so spät erst nach der Bestrahlung zum erstenmal geteilt. Bei der verhältnismäßig hohen Zahl von Zellen mit Fragmenten scheinen uns diese beiden Interpretationen nicht ganz auszureichen; der Gedanke ist sehr naheliegend, daß mindestens ein Teil von ihnen Manifestationen von Brüchen an Chromatidunterteilungen darstellt, die in der zweiten, dritten, vierten usw. Teilung nach der Bestrahlung erstmals Fragmente erscheinen lassen.

So ist die hier vorgebrachte zytologische Interpretation der genetischen Besonderheiten senfgasbehandelter *Drosophila* von verschiedenen Seiten her durch experimentelle Befunde zu stützen und es wird sorgfältig abzuwägen sein, inwieweit die genetischen Daten an *Drosophila* von der zytologischen oder der genetischen Interpretation her besser zu deuten sind. Jedenfalls erscheint es nach unseren Ergebnissen an *Paeonia* nicht unwahrscheinlich, daß in der Wirkungsmöglichkeit des Urethans — und vielleicht auch des Senfgases auf *Unterteilungen* der Chromatiden von Chromosomen eine Besonderheit liegt, welche den Röntgenstrahlen nicht in dem Maße zukommt.

Zusammenfassung.

1. Reduzierende Knospen von *Paeonia tenuifolia* ($n = 5$, identifizierbare Chromosomen) erhielten ein Gemisch von m/20 Äthylurethan + m/200 KCl injiziert. Zwei und 4 Tage nach der Injektion wurden die Knospen fixiert.

2. Von den unspezifisch physiologischen Störungen werden Chromosomenverklebungen und Anomalien des Spindelmechanismus fast nicht ausgelöst, doch ist eine Lockerung des Längszusammenhanges der Chromosomen (Verzerrungen des Centromers und lokal begrenzter Stellen der Schenkel) häufig. Sie führt in gleitendem Übergang zu den Fragmentationen.

3. Die sowohl für die physiologische wie für die Ruhekernstörung typischen Fragmentationen erfolgen als halbchromatide und als chromosomale Fragmentationen.

4. Unter den reziproken Translokationen herrschen die chromatidalen über die chromosomalen vor; eine sichere laterale Halbchromatidtranslokation wird beschrieben.

5. Von den Restitutionen innerhalb eines Chromosoms ist in der Metaphase der Meiosis nur ein kleiner Teil faßbar.

6. Röntgenbestrahlungen der Meiosis mit 300 r lösen eine sehr heftige Wirkung aus; die unspezifischen physiologischen Störungen sind auffällig stark ausgeprägt. Gegenüber der Mitosebestrahlung treten als Ruhekernstörungen keine Besonderheiten auf.

7. In der Diskussion werden die Befunde den bisherigen Ergebnissen einer Urethanbehandlung gegenübergestellt, und auf die theoretische Bedeutung einer Halbchromatidtranslokation als Anhaltspunkt für eventuelle Halbchromatidchiasmen hingewiesen.

8. Im Zusammenhang damit läßt sich eine zytologische Interpretation der genetischen Besonderheiten senfgasbehandelter *Drosophila* gewinnen, durch welche sich die Annahme einer besonderen Labilität der betroffenen Gene als nicht mehr notwendig erweist.

Literatur.

Auerbach, Ch.: Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 211 (1946). — The induction by mustard gas of chromosomal instabilities in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 307 (1947). — Auerbach, Ch., J. M. Robson and J. G. Carr: The chemical production of mutations. Science (N. Y.) **105**, 243 (1947). — Darlington, C. D., and P. C. Koller: The chemical breakage of chromosomes. Heredity **1**, 187 (1947). — Greis, H.: Mutations- und Isolationsversuche zur

Beeinflussung des Geschlechts von *Sordaria fimicola*. Z. Bot. **37**, 1 (1941). — Marquardt, H.: Der Stückaustausch zwischen nichthomologen Chromosomen in Mitosis und Meiosis. Ber. dtsch. bot. Ges. **55**, 149 (1937). — Die Röntgenpathologie der Mitose. I u. II. Z. Bot. **32**, 401 (1938). — Die Röntgenpathologie der Mitose. III. Z. Bot. **36**, 273 (1941a). Untersuchungen über den Formwechsel der Chromosomen im generativen Kern des Pollens- und Pollenschlauchs von *Allium* und *Lilium*. Planta (Berl.) **31**, 670 (1941b). — Die Herstellung von Dauerpräparaten aus Essigsäurekarmin-Quetschpräparaten. Züchter **17/18**, 447 (1947). — Das Verhalten röntgeninduzierter Viererringe mit großen, interstitiellen Segmenten bei *Oenothera Hookeri*. Z. Vererbungslehre **92**, 415 (1948a). — Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenstrahlen. Experientia **5**, 31 (1949b). — Nebel, B. R.: Chromosome structure. XII. Amer. J. Bot. **24**, 365 (1937). — Oehlkers, F.: Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. Z. Vererbungslehre **81**, 313 (1943). — Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. Biol. Zbl. **65**, 176 (1946). — Mutationsauslösung durch Chemikalien. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl. **1949** (9. Abh.). — Oehlkers, F., u. G. Linnert: Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 136 (1949). — Sax, K.: Chromosome aberrations, induced by X-rays. Genetics **23**, 494 (1938). — An analysis of X-ray-induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. Genetics **25**, 41 (1939). — Types and frequencies of chromosomal aberrations induced by X-rays. Cold Spring Harbor Symp. **9**, 93 (1941a). — The behavior of X-ray-induced chromosomal aberrations in *Allium* root tip cells. Genetics **26**, 418 (1941b). — Slizinski, B. M., and H. Slizinska: Genetical and cytological studies of lethals induced by chemical treatment in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 234 (1947).

Prof. Dr. Friedrich Oehlkers und Prof. Dr. Dr. Hans Marquardt,
(17b) Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9, Botanisches Institut.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 318—323 (1950).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DOMINANZWECHSEL BEI OENOTHERA ALS GENETISCHES UND ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHES PROBLEM.

Von

CORNELIA HARTE.

(Eingegangen am 26. September 1949.)

Für eine Besprechung des Dominanzwechsels ist zunächst zu erläutern, was hierunter zu verstehen ist. Ausgegangen wird dabei von der Erscheinung der normalen Dominanz. Wenn bei diploiden Organismen von der Dominanz eines Allels über ein anderes gesprochen wird, so heißt dies, daß in der Heterozygoten, in der bekanntlich von einem Gen zwei verschiedene Allele vereinigt sind, die Wirkung des einen Allels derart überwiegt, daß ein Phänotyp zustande kommt, der vom Phänotyp der Pflanzen, die für dieses Allel homozygot sind, kaum oder überhaupt nicht zu unterscheiden ist. Der Phänotyp der Heterozygoten ist hier durch die genetische Konstitution der Pflanzen in bezug auf dieses eine Gen von vornherein festgelegt und immer der gleiche. Unabhängig davon, aus welcher Kreuzung oder aus welcher Aufzucht die Pflanze stammt, erhält man immer dasselbe Ergebnis der Dominanz des gleichen Allels.

Von diesem Verhalten, das als das normale angesehen wird, gibt es eine Reihe auffallender Ausnahmen, die unter sich sehr verschiedenartig sind, aber eines gemeinsam haben, nämlich daß der Phänotyp der Heterozygoten nicht immer der gleiche ist, wie es nach der Dominanzregel erwartet werden sollte. Sie können entweder den Phänotyp der Homozygoten des einen Allels zeigen oder den des anderen Allels, d. h. sie können der einen oder der anderen Stammform gleich sein oder eine intermediäre Ausbildung aufweisen. Es kann also einmal das eine, dann wieder das andere Allel dominieren, und es kann nicht mehr von einem dominanten und einem rezessiven Allel gesprochen werden. Es ist jetzt die Aufgabe, die Bedingungen zu untersuchen, von denen dieser Dominanzwechsel der in der Heterozygoten zusammentreffenden Allele abhängt.

Dies soll an einigen Beispielen von *Oenothera* näher ausgeführt werden. Die dieser Darstellung zugrunde liegenden Kreuzungen wurden bereits an anderer Stelle genauer beschrieben (HARTE 1948). Aus der Kreuzung *Oe. Hookeri sulfurea* × *Lamarckiana brevistylis* entstehen Bastarde der Komplexkonstitution ^{h}*Hookeri* · *velans*. Aus der Selbstung dieser Pflanzen treten in der F_2-Generation Kümmerlinge auf, die niedrigen, buschigen Wuchs zeigen und als auffallende Eigentümlichkeit Mißbildungen der Blätter aufweisen. Eine Spreitenhälfte ist dabei reduziert, kann sogar völlig fehlen, und die Mittelrippe ist zur Seite hin gekrümmt, so daß die Blätter einen sichelförmigen Umriß erhalten. Die Anomalie wurde bereits früher von RENNER (1925) und OEHLKERS (unveröffentlicht) bemerkt. Die Benennung des Gens, von dem sie hervorgerufen wird, erfolgte nach der Blattform: *falcifolia*, sichelblättrig. Die gleichen Formen erscheinen auch aus der Kreuzung *Oe. suaveolens* × *Lamarckiana* in der Nachkommenschaft der Komplexkombination *flavens* · *velans*. In anderen Kombinationen mit

flavens und *Hookeri* treten sie nicht auf, so daß die Anlage aus dem Komplex *velans* der *Oe. Lamarckiana* stammen muß.

Der Phänotyp der mißbildeten Pflanzen zeigt eine große Variabilität. Er schwankt von starker Ausbildung der Anomalie, bei der schon alle Rosettenblätter der kleinen Sämlinge verkümmert sind, die dann bald eingehen, bis zu fast völlig normalen Pflanzen, die nur an einzelnen Seitenzweigen die verkümmerten Blätter zeigen. In der F_2 treten alle Übergänge auf, wobei aber die extrem Mißbildeten, die auf frühen Entwicklungsstadien eingehen, überwiegen. Um ein Zahlenbeispiel zu geben, sei die F_2 *flavens* · *velans* genannt: Von 675 Sämlingen gingen im Pikierkasten 115 ein, auf dem Versuchsfeld in verschiedenen Entwicklungsstadien noch 178, davon ein Teil sofort nach dem Auspflanzen, andere erst, nachdem sie einen kleinen Hauptsproß und einige Seitensprosse gebildet hatten und etwa 30—40 m hoch geworden waren. Im ganzen fielen also 293 extrem sichelblättrige auf frühen Entwicklungsstadien aus. Vom Rest waren 299 Pflanzen normal, 83 mit verschiedener, meist sehr starker Ausprägung der Anomalie. Da sowohl *Oe. Lamarckiana* wie die F_1 für die Anlage der Sichelblättrigkeit heterozygot sind und einen normalen Phänotyp zeigen, muß angenommen werden, daß das oder die Allele für die Anomalie rezessiv sind. Bei vollständiger Dominanz von „normal" sollten daher in der F_2 bei unifaktorieller Bedingtheit des Merkmals eine 3:1-Spaltung auftreten, bei Mitwirken mehrerer Faktoren ein anderes Zahlenverhältnis, aber immer müßten bei Dominanz der Anlage für „normal" die phänotypisch Normalen in der Überzahl sein, während gerade ein Überwiegen der Sichelblättrigen gefunden wurde. Die Untersuchung der F_2 ergibt also, daß keine normalen Spaltungsverhältnisse vorliegen können.

Anhaltspunkte für die Erklärung dieses Befundes finden sich in den späteren Generationen, die jeweils durch Selbstung gewonnen wurden. Die F_3 aus Selbstung einer intermediären F_2-Pflanze spaltete nach normal und sichelblättrig mit verschiedener Ausprägungsstärke. Die Nachkommenschaft einer stark verkrüppelten Pflanze ergab ebenfalls beide Formen, und die Nachkommen einer phänotypisch völlig normalen F_2-Pflanze spaltete in der F_3 ebenfalls auf. Die Sichelblättrigen waren hier sogar alle extrem ausgebildet und gingen früh ein. Alle 3 Pflanzen erwiesen sich somit trotz des verschiedenen Phänotyps als heterozygot für *falcifolia*. Wegen der hochgradigen Sterilität der verkrüppelten Pflanzen sind die Individuenzahlen der F_3-Familien zu gering, um aus den Differenzen in den Spaltungszahlen weitergehende Schlüsse zu ziehen. Es sind aber Hinweise dafür vorhanden, daß bei Vergrößerung der Zahl und des Umfanges der F_3-Aufzuchten gesicherte Unterschiede in den Spaltungszahlen, verursacht durch verschiedenen Phänotyp der Heterozygoten, gefunden werden können. Aber auch so zeigen die F_3-Aufzuchten eines mit Sicherheit: Der Phänotyp der Heterozygoten ist nicht einheitlich, sondern schwankt von einer Pflanze zur anderen von ganz normal bis zu stark ausgebildeter Anomalie. Der Überschuß der sichelblättrigen Pflanzen in der F_2 kommt also dadurch zustande, daß ein Teil der Heterozygoten trotz der Dominanz von normal in der F_1 das abweichende Merkmal ausbildet. Es findet ein Wechsel der Dominanz statt.

Das Merkmal *falcifolia* hat in den beschriebenen Eigentümlichkeiten große Ähnlichkeit mit der Mutante *crinkled dwarf* der *Baumwolle*, die von HARLAND

beschrieben wurde (zuletzt HARLAND und ATTECK 1941). Die Mutante trat mehrfach in amerikanischen Baumwollrassen auf, wo sie vollständig rezessiv ist. Bei Kreuzung mit neuseeländischen Rassen dagegen ist in der F_1 *„crinkled dwarf"* rezessiv, „normal" dominant, aber in der F_2 zeigen die Heterozygoten eine Variabilität des Phänotyps von normal bis zu völliger Dominanz des mutierten Allels, mit allen Zwischenstufen intermediärer Ausbildung. Bei der *Baumwolle* ergab die weitere Analyse, daß eine Reihe von Genen vorhanden sind, die als Dominanzmodifikatoren wirken. Allein rufen sie phänotypisch keinen Effekt hervor, ihre Wirkung besteht darin, daß sie durch ihre Anwesenheit das Allel *crinkled dwarf* in seiner Wirkung so verstärken, daß es schon in der Heterozygoten in stärkerem oder schwächerem Maße seine Wirkung entfalten kann und es so dominant machen über das normale Allel. Durch die Wirkung dieser Dominanzmodifikatoren werden in den Folgegenerationen die an sich vorhandenen, unifaktoriellen Spaltungszahlen vollständig verwischt und die auftretenden Spaltungen sind von Polymerie des Merkmals mit unkontrollierbarer Wirkung der Einzelfaktoren zunächst nicht zu unterscheiden. Dies stimmt völlig überein mit dem Verhalten von *falcifolia* bei *Oenothera*. Die Übereinstimmung geht so weit, daß auch bei der Sichelblättrigkeit ein solches System von Dominanzmodifikatoren angenommen werden kann. In diesen beiden Fällen ist die Aufklärung der Ursachen des Dominanzwechsels in erster Linie ein genetisches Problem und es ist die Aufgabe, die Dominanzmodifikatoren im einzelnen nachzuweisen und aus den Nachkommenschaften Stämme zu isolieren, in denen das abweichende Allel dominant ist, und andere Stämme, in denen es sich konstant rezessiv verhält. Bei der *Baumwolle* ist dies gelungen, bei der Sichelblättrigkeit von *Oenothera* scheiterte dieser Versuch an der hochgradigen Letalität und Sterilität der abweichenden Pflanzen.

Neben dieser Form des Dominanzwechsels, deren genetische Grundlagen bekannt sind, gibt es noch eine weitere Möglichkeit für die Labilität des Phänotyps der Heterozygoten. Als Beispiel soll das Verhalten des Gens *dichotoma* bei *Oenothera* angeführt werden. Ein gleiches Dominanzverhalten zeigen noch zwei weitere Gene, *anomala* aus *flavens*, das eine Verkümmerung des Hauptsprosses bei sonst normalem Wachstum bewirkt, und *geniculata* aus *stringens*, das Knickung und Verwachsungen am Hauptsproß hervorruft. Wir verwendeten für die Untersuchung von *dichotoma* aus den Kreuzungen von *Oe. Lamarckiana* DE VRIES die Bastarde mit dem Komplex *gaudens*, die wegen der großen Chromosomenringe in der Meiosis konstante Bastarde sind. Die F_1 *gaudens · flavens* und *gaudens · ^{h}Hookeri* ist meist normal, in einer F_1 größerer Individuenzahl (etwa über 50 Pflanzen) wird aber fast immer an einigen Pflanzen eine auffallende Bildung des Hauptsprosses beobachtet. Dieser ist dicht unter oder im Bereich der Infloreszenz gespalten, beide Äste sind meist gleich stark, seltener überwiegt der eine etwas. Die Spaltung kann sich wiederholen, so daß scheinbar eine dichotome Verzweigung der Hauptachse zustande kommt. Bei Selbstung der F_1-Pflanzen treten in der F_2 wieder Pflanzen auf mit normalen und solche mit gespaltenen Sprossen. Die Spaltungszahlen der Nachkommenschaft sind völlig gleich, unabhängig davon, ob die geselbstete heterozygote Pflanze phänotypisch normal oder *„dichotoma"* war. Das gleiche gilt für F_3-Familien, die von normalen und *dichotoma*-Pflanzen der F_2 abstammen. Die F_3-Aufzuchten ergaben, daß

sowohl die phänotypisch normalen Pflanzen der F_2 wie die phänotypisch *dichotoma*-Pflanzen heterozygot sind und in der F_3 aufspalten. Ihre Spaltungszahlen weichen in keiner Weise von denen ab, die sich bei Selbstung einer heterozygoten, phänotypisch normalen Pflanze der F_2 ergeben. Auch hier liegt wieder Dominanzwechsel vor, indem sowohl in der F_1 wie in den durch Selbstung gewonnenen weiteren Generationen die Heterozygoten einen normalen oder einen gespaltenen Hauptsproß haben können. Gegenüber dem Verhalten von *fal* und *crinkled dwarf* sind aber wichtige Unterschiede festzustellen. Es zeigen sich keinerlei Zusammenhänge zwischen dem Phänotyp der einzelnen Pflanzen und der Spaltung in ihrer Nachkommenschaft. Wenn „normal" dominant war, finden sich unter den Nachkommen ebensogut heterozygote Pflanzen des Phänotyps „gespalten", wie wenn die geselbstete heterozygote Pflanze phänotypisch *dichotoma* war. Eine Selektion auf Dominanz des einen oder des anderen Allels ist unmöglich. Die Dominanz eines bestimmten Allels, entweder normal oder *dichotoma*, gilt nur für die eine Pflanze, an der sie sich zeigt, aber nicht mehr für ihre Nachkommenschaft. Eine genetische Erklärung durch die Wirkung von Dominanzmodifikatoren ist hier demnach ausgeschlossen. Sie ist aber auch nicht die einzige Erklärungsmöglichkeit. Eine Deutung ist möglich, wenn von den Kenntnissen über die Wirkung der Gene ausgegangen wird.

In Fällen wie bei *dichotoma* muß angenommen werden, daß die Wirkung der beiden Allele, die in der Heterozygoten vereinigt sind, nicht nach einem bestimmten Schema abläuft, sondern daß die Pflanze nicht sofort zu einer endgültigen Entscheidung gebracht wird. Durch die Wirkung der beiden Allele wird sie in einen labilen Zustand versetzt, in dem eine Reaktion sowohl nach der einen wie auch nach der anderen Seite erfolgen kann. Die Möglichkeit hierzu ist im Mechanismus der Genwirkung gegeben.

Aus den Untersuchungen über die Wirkung der Gene weiß man, daß die Reaktionskette zwischen Gen und Merkmal über Fermentbildung geht, und daß deren Wirkung nach Art einer Schwellenreaktion abläuft, d. h. daß der unter dem Einfluß des Gens direkt oder über verschiedene Zwischenstufen entstehende Stoff eine bestimmte Konzentration erreicht haben muß, bevor die weitere Reaktion, die zur Ausbildung des Merkmals führt, einsetzt. Die Allele eines Gens unterscheiden sich in der Stärke der Fermentbildung, es sind jeweils ein stark und ein schwach oder nichtwirksames Allel vorhanden. Ein starkes Allel in der Heterozygoten bewirkt in einer bestimmten Zeit nur halb so viel wie zwei in der Homozygoten. Es ist außerdem bekannt, daß die Reaktionen, die vom Ferment zum Merkmal führen, eine bestimmte Mindestzeit benötigen, um einen sichtbaren Effekt hervorzurufen, es besteht also eine Zeitabhängigkeit. Die Geschwindigkeit dieser beiden Reaktionsketten, vom Gen zum Ferment und unter der Wirkung des Fermentes zum Merkmal ist wie alle biochemischen Abläufe durch Außeneinflüsse modifizierbar. Hieraus ergibt sich, daß in manchen Heterozygoten unter dem Einfluß eines einzigen stark wirksamen Allels dieser Schwellenwert gerade eben erreicht werden kann. Es tritt dann der Fall ein, daß bei Bedingungen, die für den Ablauf dieser Reaktionen günstig sind, ein Merkmal ausgebildet wird und in einer anderen Pflanze, für die einige dieser Umweltbedingungen ungünstig waren, der Schwellenwert nicht erreicht wird und die ganze Reaktionskette in der für die Entwicklung zur Verfügung stehenden

Zeit nicht zu Ende läuft, so daß das Merkmal nicht ausgebildet wird. In diesen Fällen wird sich ein von bekannten oder zunächst noch nicht analysierbaren Umwelteinflüssen abhängiger Dominanzwechsel zeigen. Hier ist es also die Aufgabe, die wirksamen Umwelteinflüsse aufzudecken und ihr Eingreifen in die Reaktionsketten zwischen Gen und Merkmal deutlich zu machen. Der Dominanzwechsel ist hierbei ein ausschließlich entwicklungsphysiologisches Problem. Bei *Drosophila* wurde für eine Reihe von Genen festgestellt, daß alle Faktoren, die eine Veränderung der Entwicklungsdauer bewirken, in der Heterozygoten einen Dominanzwechsel hervorrufen können. Bei den Pflanzen ist die Analyse nicht so weit vorgeschritten, aber es läßt sich doch bereits mit Sicherheit aussagen, daß der rein entwicklungsphysiologisch erklärbare Dominanzwechsel weit verbreitet sein muß.

Zuletzt sei noch auf eine dritte Ursache des Dominanzwechsels kurz eingegangen, die wohl zu den interessantesten Erscheinungen auf diesem Gebiet gehört und von CATCHESIDE (1947) gefunden wurde. Es betrifft hier die bekannten Gene *str* (Knospenstreifung), von CATCHESIDE noch *P* benannt, und *s* (Blütenfarbe). Normalerweise, wenn beide Gene in einem Bivalent mit den Enden 3—4 liegen, sind bei den Allelen, die CATCHESIDE verwendete, grüne Knospe und schwefelgelbe Blüte rezessiv gegen rote Knospe und dunkelgelbe Petalen. Dies trifft auch zu, wenn der Bastard gleichzeitig für die natürlich vorkommende reziproke Translokation heterozygot ist, durch die die Chromosomen mit den Enden 1—4 und 2—3 entstehen. Bei einer neuen, künstlich hergestellten reziproken Translokation, durch die Chromosomen mit den Enden 1—3 und 2—4 gebildet wurden, zeigten die Pflanzen, die gleichzeitig für die Translokation und die genannten Gene heterozygot waren, eine intermediäre Ausbildung. Es finden sich an Blüten der gleichen Pflanze gelbe und sulfurea-Bezirke auf den Kronblättern nebeneinander, ebenso rote und grüne Flecken auf den Kelchblättern. Dieser Dominanzwechsel ist weder durch Modifikatoren noch auf Grund unserer Kenntnis der Genwirkung zu erklären. Ähnliche Mosaikbildung an Heterozygoten wurde bei *Drosophila* beobachtet, wenn durch eine Translokation das betreffende dominante, im Euchromatin lokalisierte Allel in die Nähe von Heterochromatin verlagert wurde (NOUJDIN 1947, DEMEREC 1940). Auf Grund der Struktur der *Oenothera*-Chromosomen, die große heterochromatische Mittelstücke enthalten, ist es möglich, daß im Fall von *str—s* ebenfalls die Ursache des Dominanzwechsels in dieser Richtung zu suchen ist. Beide Gene liegen eng benachbart im euchromatischen Chromosomenende 3, ziemlich nahe an der Grenze zum Heterochromatin, aber doch so weit davon entfernt, daß crossing-over auf dieser Strecke deutlich nachweisbar ist (HARTE 1948). Es ist also möglich, daß durch die genannte Translokation beide Loci dichter an Heterochromatin gelagert wurden, was aber wegen der zytologischen Ungunst des Objektes nicht direkt nachzuweisen ist. Der Dominanzwechsel ist hier ein Positionseffekt, verursacht durch verschiedene Lage der Loci im Genom. Die Untersuchung rührt hier an das Problem der Struktur der Gene, für dessen Untersuchung Fälle wie diese von besonderer Wichtigkeit geworden sind.

In bezug auf die Erscheinung des Dominanzwechsels steht *Oenothera* nicht isoliert da. Die ersten Feststellungen über einen Wechsel des Phänotyps der Heterozygoten wurden von WHITE (1916) gemacht, aber schon vorher muß

DE VRIES (1889ff., Neudruck 1920) in seinen Untersuchungen über Verbänderung und Zwangsdrehung Fälle von Dominanzwechsel in der Hand gehabt haben, hatte aber die Tragweite seiner Beobachtungen wegen der damals ganz andersartigen Fragestellung nicht erkannt. Später wurden bei einer ganzen Reihe von Pflanzen [*Salix*, (IKENO 1922), *Plantago* (IKENO 1924), *Nicotiana* (WHITE 1916), *Antirrhinum* (KUCKUCK und SCHICK 1930, BAUR 1918), *Gossypium* (HARLAND 1941)] von verschiedenen Autoren die gleiche Erscheinung festgestellt. (Tabellarische Zusammenstellung bei HARTE 1948.) Die Zusammenfassung aller dieser Fälle zeigt, daß 2 Formen des Dominanzwechsels zu unterscheiden sind, solche, die in erster Linie ein genetisches und andere, die ein ausschließlich entwicklungsphysiologisches Problem betreffen.

Die Erforschung des Dominanzwechsels steht, obgleich die Erscheinung schon lange bekannt ist, erst am Anfang, und es gibt hierbei mehr Hypothesen als gesicherte Erklärungen, aber gerade durch die verschiedenen möglichen Ursachen, die in jedem Einzelfall alle geprüft werden müssen, wird der Dominanzwechsel zu einer Erscheinung, deren Aufklärung Einblicke in die Wirkung der Gene, das Zusammenwirken der Gene im Organismus, die Modifizierbarkeit dieser Wirkung durch äußere Einflüsse, und schließlich auch in die Natur der Gene verspricht, und die damit ihren Beitrag zum Aufbau einer physiologischen Genetik liefern kann.

Literatur.

BAUR, E.: Über eine eigentümliche mit absoluter Koppelung zusammenhängende Dominanzstörung. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 107 (1918). — CATCHESIDE, D. G.: The P-Locus position effect in *Oenothera*. J. Genet. **48**, 31 (1947). — DEMEREC: Genetic behaviour of euchromatic segments inserted into heterochromatin. Genetics **25**, 618 (1940). — HARLAND, S. C., and O. ATTECK: The genetics of *Cotton*. 18. Transference of genes from diploid North American Wild *cottons (Gossypium thurberi*, Tod., *G. armourianum* Kearney and *Gossypium aridum comb. nov. Skovsted)* to tetraploid new world *cottons (G. barbadense L. and G. hirsutum L.)*. J. Genet. **42**, 1 (1941). — HARTE, C.: Zytologisch-genetische Untersuchungen an spaltenden *Oenotheren*-Bastarden. Z. Vererbungslehre **82**, 495 (1948). — IKENO, S.: On hybridization of some species of *Salix*. II. Ann. of Bot. **36**, 175 (1922). — Über einen Fall der mutativen Entstehung von letalen Faktoren im Pflanzenreich. Biol. Zbl. **44**, 97 (1924). — KUCKUCK, H., u. R. SCHICK: Die Erbfaktoren bei *Antirrhinum majus* und ihre Bezeichnung. Z. Vererbungslehre **56**, 51 (1930). — NOUJDIN: Role of structural homo- and heterozygoty in mosaic formation. Nature (Lond.) **155**, 514 (1945). — RENNER, O.: Untersuchungen über die faktorielle Konstitution einiger komplexheterozygotischer *Oenotheren*. Leipzig: Gebrüder Borntraeger 1925. — DE VRIES, H.: Opera e periodicis collata, Bd. V u. VI. Utrecht: Oosthoek 1920. — WHITE, O. E.: Studies of teratological phenomena in their relation to evolution and the problem of heredity. II. The nature, causes, distribution, and inheritance of fascination with special reference to its occurrence in *Nicotiana*. Z. Vererbungslehre **16**, 49 (1916).

Dozentin Dr. CORNELIA HARTE,
Botanisches Institut, (17b) Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 324—340 (1950).

Aus dem Institut für Hirnforschung, Neustadt (Schwarzwald).

ANALYSE DURCH ÄTHYLURETHAN BEI DROSOPHILA INDUZIERTER MUTATIONEN.

Von

MARGUERITE VOGT.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. September 1949.)

A. Einleitung.

Seitdem in den letzten Jahren zu der Möglichkeit der Mutationsauslösung durch Strahlen diejenige durch Chemikalieneinwirkung getreten ist, rückt die Frage nach eventuellen Unterschieden zwischen physikalisch und chemisch induzierten Mutationen immer mehr in den Vordergrund des Interesses, sind es doch gerade solche Unterschiede, von denen wir in erster Linie erwarten dürfen, daß sie eines Tages den Entstehungsmechanismus induzierter und weiterhin auch spontaner Mutationen von einer neuen Seite beleuchten werden.

Bei *Drosophila* wurden für eine vergleichende Analyse physikalisch und chemisch induzierter Mutationen bisher vorwiegend die durch Substanzen der Senfgasgruppe ausgelösten Mutationen herangezogen (AUERBACH 1946 und 1947; AUERBACH und ROBSON 1947a und b; SLIZYNSKA und SLIZYNSKI 1947). Das Ergebnis war im wesentlichen folgendes:

Auf der einen Seite fiel die große *Ähnlichkeit* zwischen den durch Senfgas und durch Strahleneinwirkung induzierten Mutationen auf. So traten erstens nach Senfgasbehandlung ebenfalls jene drei uns schon aus der Strahlengenetik bekannten Hauptmutationsklassen auf, nämlich 1. *Gen-* oder *Punktmutationen* (= Mutationen ohne nachweisliche Veränderungen in den Speicheldrüsenchromosomen), 2. *Mutationen* mit *kleineren intrachromosomalen Strukturumbauten* und 3. *Mutationen* mit *größeren intra-* oder *interchromosomalen Strukturumbauten*[1]. Eine weitere Ähnlichkeit zwischen der Wirkung von Senfgasen und Strahlen war die weitgehende *Unspezifität* der induzierten Mutationen. Es waren z. B. die im X-Chromosom induzierten rezessiven „letalen" Genmutationen über die gesamte Chromosomenkarte verteilt (s. auch Abb. 3a); unter den rezessiven „sichtbaren" Genmutationen traten mit einer Ausnahme Mutationen solcher Loci mehrmals auf, die auch nach Röntgenstrahlen oder spontan eine erhöhte Mutabilität zeigen (AUERBACH und ROBSON, 1947a).

Es ist die beobachtete große Ähnlichkeit zwischen physikalisch und chemisch induzierten Mutationen von besonderer Bedeutung, weil man bei einer chemischen Einwirkungsweise im Gegensatz zu einer physikalisch-energetischen zunächst erwarten würde, daß das mutagene Agens auf Grund seiner chemischen

[1] Für den genetisch weniger geschulten Leser sei bemerkt, daß sich die unter 2. zusammengefaßten Mutationen im genetischen Koppelungstest wie *mendelnde Faktoren* verhalten und von „Genmutationen" im engeren Sinne (Klasse 1) erst mit Hilfe einer Analyse der Speicheldrüsenchromosomen abgegrenzt werden können. Sie umfassen Defizienzen, Duplikationen und Inversionen von etwa 1—15 Chromosomenbanden.

Affinitäten *bevorzugt* mit bestimmten Chromosomenbestandteilen oder auch bestimmten Wirkgruppen einzelner Gene reagieren und somit *selektiv* bestimmte Mutationstypen induzieren würde.

Die *Unterschiede* zwischen senfgas- und röntgenstrahleninduzierten Mutationen waren andererseits vorwiegend *quantitativer* Art. So war bei einer gleichen Rate geschlechtsgebundener rezessiver Letalmutationen der Prozentsatz an *großen Chromosomenumbauten* (vorwiegend Translokationen und in geringerem Maße Deletionen) deutlich *niedriger* nach Senfgas als nach Röntgenstrahleneinwirkung. Zur Erklärung dieses Befundes lassen sich in erster Linie 2 Denkmöglichkeiten anführen. 1. Die Senfgase lösen im Vergleich zu Röntgenstrahlen bei einer gleichen Zahl von Punktmutationen weniger Chromosomenbrüche aus oder 2. die relative Zahl der induzierten Chromosomenbrüche ist nach beiden Agentien die gleiche; es kommt aber nach Senfgaseinwirkung zu einer bevorzugten Wiedervereinigung der ursprünglich zusammengehörenden Bruchenden, und nur seltener zu einer Vereinigung zwischen neuen Bruchenden, speziell, wenn diese verschiedenen Chromosomen angehören. — Zwischen diesen beiden Denkmöglichkeiten kann heute noch nicht entschieden werden.

Ein weiterer Unterschied zwischen der Wirkung von Senfgasen und derjenigen von Röntgenstrahlen betraf die Induktion von *Mosaikmutanten*[1]. Letztere bildeten nach Senfgasbehandlung einen weit *größeren* Prozentsatz aller F_1-Mutanten. Ferner traten außer den nach Röntgenbestrahlung meist beobachteten *Halb-halb*-Mosaiken oft Mosaikindividuen auf, in denen die mutierten Zellen nur etwa ein *Viertel* oder einen noch *kleineren Teil* aller Körperzellen ausmachten. Besonders auffällig war schließlich, daß einige der Mosaikmutanten, die in der F_1 senfgasbehandelter *Drosophila*-Männchen aufgetreten waren, *ihren Gonadenmosaizismus*[2] *abermals auf ihre Töchter übertrugen*, ein Befund, der bisher für strahleninduzierte Mutationen bei *Drosophila* noch nicht erhoben wurde. Alle die soeben aufgezählten Befunde lassen sich nach Auerbach (1946 und 1947) durch die Annahme einer *Nachwirkung* der chemischen Behandlung auf die Chromosomen erklären. Es entstehe in einigen Fällen unter dem Einfluß des Chemikaliums eine lokalisierte *Chromosomeninstabilität*, die sich erst anschließend, *nach einer oder mehreren Zellteilungen*, durch Mutation zu einer neuen stabilen Form oder auch durch Rückmutation zur stabilen Ausgangsform *stabilisiere*.

Eine andere, heute noch nicht völlig auszuschließende Deutungsmöglichkeit der obigen Befunde, auf die Muller (1947) erstmalig hinwies, sei noch kurz erwähnt. Gehen wir von der Hypothese aus, daß die in den Spermatozoen befindlichen Gene aus einer *größeren Zahl* unter sich *identischer Elemente* zusammengesetzt sind, und daß in einigen Fällen unter dem Einfluß des mutagenen Chemikaliums nur *einzelne* Elemente eines Gens mutieren, so werden in den auf die Befruchtung folgenden Zellteilungen infolge einer zufallsmäßigen Verteilung der mutierten Gen-Elemente auf die einzelnen Tochterzellen wiederholt Zellen mit *nur mutierten* und Zellen mit *nur normalen* Gen-Elementen herausspalten.

[1] Unter einer „Mosaik-Mutante" versteht man ein Individuum, das nebeneinander Zellen der normalen und Zellen der mutierten genotypischen Konstitution besitzt.

[2] Fällt bei einer Mosaik-Mutante ein mutierter Gewebsfleck auf einen Abschnitt der Gonaden, so spricht man speziell von „Gonaden-Mosaizismus".

Das fertige Individuum wird daher ein *unregelmäßiges Mosaik* aus mutierten und normalen Zellen bilden. Nehmen wir ferner an, daß die Segregation der mutierten Gen-Elemente nach einer Zygotengeneration noch nicht beendet ist, so werden auch noch in späteren Zellgenerationen wiederholt mutierte Zellen herausspalten, und das betreffende Gen wird sich in seinem Erbgang für einige Zeit wie ein *instabiles* Gen verhalten[1].

Es erscheint in diesem Zusammenhang noch von Interesse, daß die beiden für die Senfgaswirkung soeben geschilderten Besonderheiten, nämlich die relativ geringe Zahl von Chromosomenumbauten sowie das gehäufte Auftreten von Mosaikmutanten ebenfalls Charakteristika der Wirkung von *Ultravioletts*trahlen darstellen. Nach AUERBACH und ROBSON (1947) dürften die Senfgase in bezug auf die genannten Wirkungen eine Mittelstellung zwischen Röntgenstrahlen und Ultravioletts trahlen einnehmen.

Außer den Senfgasen wurde bisher bei *Drosophila* die mutagene Wirkung von *Dibenzanthracen* (DEMEREC 1947 und 1948) und *Phenol* (HADORN und NIGGLI 1946; NIGGLI 1946 und 1948; HADORN, ROSIN und BERTANI 1948) näher untersucht.

Die mutagene Wirkung des *Dibenzanthracens* ist im ClB-Test eine relativ schwache. (In einer von 5 Versuchsserien fiel die beobachtete Mutationsrate sogar in den Streuungsbereich der Kontrollserien.) Qualitativ scheint nach den bisherigen Befunden die Wirkung des Dibenzanthracens derjenigen der Senfgase ähnlich zu sein. Erstens traten neben Punktmutationen auch Chromosomenmutationen (Inversionen) auf. Zweitens ließ sich keine Spezifität der induzierten Mutationen nachweisen.

Die Analyse der mutagenen Wirkung des *Phenols* durch HADORN und Mitarbeiter betraf in erster Linie die Frage der *Spezifität* der induzierten Mutationen. HADORN und NIGGLI beobachteten, daß in verschiedenen phenolbehandelten Ovarien des *gleichen Drosophila*-Stammes wiederholt *identische* Mutationen auftraten. Gleichzeitig waren die nach Phenoleinwirkung in zwei *verschiedenen* Stämmen auftretenden Mutationen nicht identisch. Die Autoren schließen daraus, daß in verschiedenen *Drosophila*-Stämmen eine nicht allzu große Anzahl, von Stamm zu Stamm verschiedener Gen-Loci vorhanden sind, die sich durch eine stark *erhöhte Empfindlichkeit* gegenüber der mutagenen Wirkung des Phenols auszeichnen. Da die Autoren Mutationen des II. Chromosoms untersuchten, über dessen Mutabilität nach Einwirkung verschiedener Agentien nur wenig vergleichbare Daten vorhanden sind, läßt sich leider heute die interessante Frage noch nicht entscheiden, ob die in den Versuchen HADORNs und NIGGLIs nach Phenolbehandlung mehrfach reagierenden Gen-Loci auch nach Einwirkung

[1] Eine andere Spielart der obigen Hypothese wäre die Annahme, daß das Chromosom selbst aus einer *größeren Zahl* unter sich *identischer Längselemente* zusammengesetzt ist, von denen nach Einwirkung eines Chemikaliums gelegentlich nur ein *kleiner Teil* mutiert. Sind dabei die Längselemente durch Matrixbildungen zu Chromatiden, Halbchromatiden und vielleicht weiteren Untereinheiten in beschränkter Zahl vereinigt, so wird die Aufspaltung der Längselemente zunächst in geordneter Form und erst bei späteren Zellteilungen in einer nicht von vornherein festgelegten, also zufallsmäßigen, Weise erfolgen. Diese Hypothese würde sowohl das Auftreten *regelmäßiger* Halb- und Viertelmosaiken als auch das Auftreten jener *unregelmäßigen* Mosaikindividuen erklären können, deren mutiertes Gen den Charakter eines „instabilen" Gens zeigt.

anderer mutagener Agentien bevorzugt mutieren würden. Für eine solche Denkmöglichkeit sprechen weiter unten beschriebene Ergebnisse. Die Locusspezifität der phenolinduzierten Mutationen wäre dann nicht die Folge einer *selektiven* Wirkung des Phenols auf spezifische Chromosomen-Loci, sondern die Folge einer *ungleichen Empfindlichkeit* verschiedener Chromosomenregionen auf mutagene Reize der *verschiedensten Art*. Die mutagene Wirkung des Phenols selbst wäre also abermals eine *unspezifische*.

Die im folgenden zu schildernden Versuche haben die nähere Analyse der bei *Drosophila* nach *Urethan*-Einwirkung auftretenden Mutationen zum Ziel. Den Anlaß zur Anwendung des Urethans[1] als mutagenes Agens gaben Befunde von Oehlkers (1943 und 1946), nach denen eine Mischung von Äthylurethan + Kaliumchlorid bei der Auslösung von *Chromosomen-* und *Chromatidtranslokationen* in den Pollenmutterzellen von *Oenothera* und *Campanula* sich als besonders wirksam erwies. Die in der vorliegenden Arbeit zu berichtenden Ergebnisse betreffen in erster Linie die *Ähnlichkeiten* zwischen Urethan- und physikalisch induzierten Mutationen. Es ist beabsichtigt, die Frage der Auslösung von Mosaikmutanten in einer späteren Arbeit zu behandeln.

B. Material und Methodik.

Als Material für die Mutationsversuche dienten 2 Stämme von *Drosophila melanogaster:* Ein über 50 Generationen ingezüchteter *Berlin-wild*-Stamm sowie ein die *scute-8*-Inversion tragender *scute-8-Bar(sc^{8}B)*-Stamm. Subletale Äthylurethandosen wurden in isotonischer (0,956%) KCl- oder (0,75%) NaCl-Lösung in das Abdomen 2 Tage alter Fliegenmännchen injiziert; in die Kontrollmännchen wurden an den gleichen Versuchstagen eine reine KCl- bzw. NaCl-Lösung gespritzt. Die 24 Std nach der Injektion überlebenden Männchen wurden einzeln mit *y v ClB/w^{co}v f*-Weibchen angesetzt und nach weiteren 24 Std aus den Zuchtgläschen entfernt. Aus der F_1 wurden die für das *y v ClB*- sowie das behandelte +- (bzw. *sc^{8}B*)- Chromosom heterozygoten Weibchen ausgesucht (wobei nicht mehr als 20 Weibchen aus ein und demselben Glas genommen wurden) und einzeln mit ihren *w^{co}v f*-Brüdern gekreuzt. Das Auftreten eines rezessiven *Letalfaktors* im behandelten X-Chromosom war an dem Fehlen von +- (bzw. *sc^{8}B*)-Männchen in den F_2-Kulturen kenntlich. Alle F_2-Kulturen wurden gleichzeitig auf rezessive *sichtbare* geschlechtsgebundene Mutationen hin durchgesehen. Es wurden die Fälle als sichtbare Mutationen geführt, in denen alle (oder in 3 Fällen etwa die Hälfte der) F_2-Männchen der betreffenden Kultur das Merkmal zeigten. Semiletalfaktoren wurden nur berücksichtigt, wenn sie mit einer Veränderung des Phänotyps verbunden waren (= rezessive *semiletale sichtbare* Mutationen). Alle Kulturen wurden bei einer Temperatur von 25° C gehalten. Etwa 5 Tage nach Ansetzen der F_2-Kulturen wurden die Eltern entfernt und frische Hefe in die Gläschen geschüttet. Zur weiteren Analyse wurden die letalen und sichtbaren Mutationen über dem *sc^{S1}(InS) w^{a}sc^8*- bzw. *Muller-5*-Chromosom balanciert. (Beide Chromosomen enthalten 2 Inversionen, so daß es nur sehr selten zu lebensfähigen Austauschtieren kommt; durch letztere Tatsache läßt

[1] In einer mir leider im Original nicht zugänglichen Arbeit wurden auch von I. A. Rapoport [Bull. exper. Biol. Med. **23** (1946)] Derivate der Carbaminsäure auf ihre mutagene Wirkung bei *Drosophila* geprüft.

sich der Verlust eines Letalfaktors weitgehend vermeiden.) Als Bezugsgene für die genetische Lokalisierung der gefundenen Mutationen wurden die Gene *y*, *cv*, *v*, *f* und *car* benutzt. Die Untersuchung der Speicheldrüsenchromosomen erfolgte stets im Anschluß an die genetische Lokalisierung der betreffenden Mutation.

C. Experimenteller Teil.

1. Die mutagene Wirksamkeit des Urethans im ClB-Test.

Tabelle 1 bringt eine Übersicht über alle Versuchsserien, in denen die Produktion geschlechtsgebundener Mutationen durch Äthylurethan mit Hilfe der *ClB*-Methode untersucht wurde. Die Versuche erstreckten sich über etwa $1^1/_2$ Jahre. Serien, die an gleichen Tagen angesetzt wurden, sind in der Tabelle durch horizontale Linien zusammengefaßt. Versuchsserien 1—3 wurden schon früher veröffentlicht (VOGT, 1948).

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, war der Prozentsatz an rezessiven *letalen* Mutationen in allen Urethanserien deutlich höher als in den Kontrollserien (Reihe 1, 2 und 5). Dabei erwiesen sich eine Urethan-KCl- und eine Urethan-NaCl-Mischung als etwa gleich wirksam (Reihe 4). (Die Urethan-NaCl-Mischung hat den Vorteil einer geringeren Toxizität.) Die höchste Mutationsrate wurde in den Serien beobachtet, in denen die Fliegenmännchen eine m/4 Urethandosis erhielten und die ersten 2 Std nach der Injektion bei einer Temperatur von 6—10° C gehalten wurden (Reihe 4—6). Bei dieser kombinierten Urethan-Kältebehandlung erreichte der Prozentsatz an Letalmutationen durchschnittlich 5,7% (Reihe 7).

Fragen wir uns nach einer Erklärung für die leicht *erhöhte* mutagene Wirkung des Urethans in letzterem Fall, so lassen sich in erster Linie 2 Denkmöglichkeiten anführen: 1. Die Kälteeinwirkung als solche führt zu einer erhöhten Empfindlichkeit der Chromosomen auf mutagene Reize, z. B. auf dem Wege einer Entspiralisierung heterochromatischer Regionen, oder 2. die den Hoden erreichende Gesamtmenge an Urethan ist bei niedriger Temperatur größer, z. B. infolge einer langsameren Ausscheidung des Urethans. Zwischen diesen beiden sowie anderen Möglichkeiten sei nicht entschieden, zumal die beobachteten Unterschiede statistisch nicht gesichert sind.

Wie Tabelle 1 ferner zeigt, war die Zahl der rezessiven *sichtbaren* Mutationen in den Urethanserien ebenfalls erhöht. Das Verhältnis der letalen zu den sichtbaren Mutationen betrug im Durchschnitt 4,7:1 (drittletzte Spalte). Dieser Wert entspricht größenordnungsmäßig dem von anderen Autoren für *bestrahltes Drosophila*-Material beobachteten Zahlenverhältnis zwischen letalen und sichtbaren Mutationen und liegt sehr dicht an den Werten 5,3:1 bzw. 4,3:1, die SPENCER und STERN (1948) in großen Versuchsserien für bestrahltes bzw. unbehandeltes Material fanden.

2. Die Verteilung der induzierten Mutationen über das X-Chromosom.

114 der in den Urethanserien aufgetretenen, geschlechtsgebundenen rezessiven Mutationen wurden teils im Koppelungstest, teils im Allelietest, genetisch näher lokalisiert. Die Daten sind in Abb. 1 graphisch dargestellt.

Auf der Abszisse sind die verschiedenen Regionen der genetischen Karte des X-Chromosoms eingetragen. Die senkrechten Säulen geben die prozentualen Häufigkeiten der in den einzelnen Kartenregionen induzierten Mutationen wieder. Der Basis jeder Säule

Tabelle 1. *Induktion geschlechtsgebundener rezessiver Mutationen durch Äthylurethan.* (*ClB*-Methode.)

Nr. der Reihe	Nr. des Versuches	Stamm	Injizierte Substanzen und Temperatur	Urethan-konzentration	Zahl der geprüften X-Chromosome	Zahl der Mutationen			Prozent an Letalmutationen	Letalen-Sichtbaren-Verhältnis	Zahl der untersuchten Männchen	Zahl der Männchen mit Mutationen
						Letale	Semiletale sichtbare	Sichtbare				
1	1—3	*Berlin-wild*	Urethan + KCl 25°	m/3, m/4, m/8	1327	45	2	2	3,5 (3,0—4,6)	—	66	37
	Kontrolle	*Berlin-wild*	KCl 25°	—	1088	7	—	—	0,6	—	61	6
2	10, 12, 17	*sc*^{8}*B*	Urethan + KCl 25°	m/4, m/8	1319	31	2	6	2,3 (1,3—3,2)	—	61	23
	Kontrolle	*sc*^{8}*B*	KCl 25°	—	1305	3	—	—	0,2	—	67	3
3	23, 24	*Berlin-wild*	Urethan + KCl 8—9°	m/8	771	20	1	2	2,6 (2,4—2,9)	—	74	20
			Urethan + KCl 25°		811	17	—	1	2,1 (1,7—2,9)	—	76	14
4	19	*Berlin-wild*	Urethan + KCl 10°	m/4	240	13	1	3	5,4	3,2:1	20	12
			Urethan + NaCl 10°		322	20	2	3	6,2	3,9:1	22	14
5	20, 21	*Berlin-wild*	Urethan + NaCl 8—10°	m/4	616	31	3	3	5,0 (4,7—5,3)	5,2:1	71	28
	Kontrolle	*Berlin-wild*	NaCl 8—10°	—	930	3	—	—	0,3		86	3
6	25, 26	*Berlin-wild*	Urethan + NaCl 6—8°	m/4	970	58	2	9	6,0 (5,9—6,1)	5,3:1	104	48
			Urethan + NaCl 25°		992	43	5	2	4,3 (3,9—4,7)		90	39
7	Total 19—21, 25, 26	*Berlin-wild*	Urethan + NaCl oder + KCl 6—10°	m/4	2148	122	8	18	5,7 (4,7—6,1)	4,7:1	217	102

entsprechen je 5 Crossing-over-Einheiten der genetischen Karte. Die Region 0—5 wurde nochmals unterteilt (weiße Säulen), um die in der Region 0—2,5 aufgetretenen Mutationen getrennt hervortreten zu lassen.

Wie zunächst aus Abb. 1 zu erkennen ist, sind die nach Urethaneinwirkung aufgetretenen letalen und sichtbaren Mutationen *über die gesamte Länge* der Chromosomenkarte verteilt; es reagieren somit eine größere Anzahl *verschiedener*

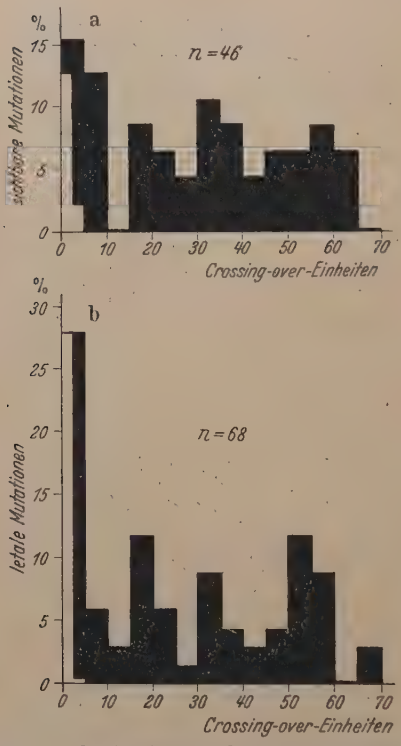


Abb. 1a u. b. Verteilung der in den Urethanserien aufgetretenen geschlechtsgebundenen rezessiven Mutationen entlang der genetischen Karte des X-Chromosoms. a Sichtbare, b letale Mutationen.

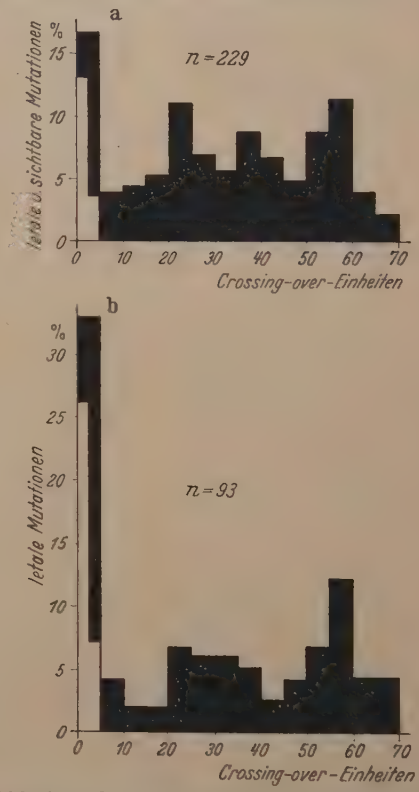


Abb. 2a u. b. a Verteilung der in bestrahltem und unbestrahltem Material beobachteten geschlechtsgebundenen rezessiven Mutationen nach Daten von SPENCER und STERN (1948); b Verteilung der in bestrahltem Material beobachteten geschlechtsgebundenen rezessiven Mutationen nach Daten von MULLER (1927).

Loci des X-Chromosoms auf den mutagenen Reiz des Urethans. Gleichzeitig fällt auf, daß sowohl die sichtbaren als auch die letalen Mutationen ungleichmäßig auf die verschiedenen Kartenregionen verteilt sind. Statistisch am besten gesichert ist hierbei das *Dichtemaximum am äußersten linken Ende* der Chromosomenkarte in der Region 0—5 (bzw. 0—2,5). Vergleichen wir die in Abb. 1 wiedergegebene Häufigkeitsverteilung der nach Urethanbehandlung erhaltenen Mutationen mit den von anderen Autoren nach Einwirkung von Röntgenstrahlen (Abb. 2) oder Senfgas (Abb. 3a) gefundenen Verteilungen, so zeigen auch diese Häufigkeitsverteilungen ein ausgeprägtes Dichtemaximum in der Region 0—5 (bzw. 0—2,5). Das abweichende Verhalten des linken Chromosomenendes ist somit *unabhängig* von der *Art des angewandten mutagenen Agens*. Es dürfte in

erster Linie die Folge eines im Vergleich zu anderen Kartenregionen besonders *hohen Gehaltes* an *Chromosomen-Loci* sein. So erhalten wir ein ähnliches Dichtemaximum in der Region 0—5, wenn wir z. B. die (bis 1926 bekannten) *Loci* spontaner (rezessiver) sichtbarer Mutationen der *Standardkarte* des X-Chromosoms (Morgan, Bridges und Sturtevant, 1925) entnehmen und ihre Verteilung auf die einzelnen Kartenregionen in einem gleichen Schema graphisch darstellen (Abb. 3b). — Das eben erwähnte gleichsinnige Verhalten des linken Chromosomenendes in der Häufigkeitsverteilung der Loci *spontaner* sichtbarer Mutationen

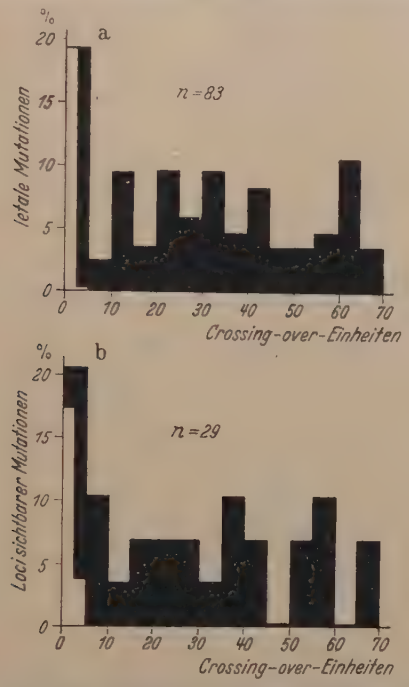


Abb. 3a u. b. a Verteilung der nach Senfgasbehandlung aufgetretenen geschlechtsgebundenen rezessiven Mutationen nach Daten von Slizynska und Slizynski (1947). b Verteilung der Loci spontaner rezessiver sichtbarer Mutationen nach der Standardkarte des X-Chromosoms.

hat noch ein weiteres besonderes Interesse. So weist schon letzteres mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß die *spontanen* (sichtbaren) und die *induzierten* (letalen und sichtbaren) Mutationen solche der *gleichen* Genloci darstellen, ein Schluß, der durch die Daten des nächsten Abschnittes eine weitere Stütze erhält.

Es sei an dieser Stelle noch eine kurze Bemerkung eingefügt. Da die Loci der spontanen Mutationen *sichtbare* Mutationen, die untersuchten induzierten Mutationen größtenteils aber *letale* Mutationen betrafen, können wir in gleicher Weise schließen, daß auch die *sichtbaren* und *letalen* Mutationen höchstwahrscheinlich Mutationen der *gleichen* Loci darstellen. Diese Annahme wird ihrerseits gestützt durch das Ergebnis einer eingehenden statistischen Analyse Slizynskas und Slizynskis (1947), die die Verteilung der durch Senfgas induzierten rezessiven *letalen* Mutationen mit der Verteilung aller heute bekannten (spontanen sowie induzierten) Loci *sichtbarer* Mutationen verglichen. Es ergab sich ein weitgehender Parallelismus zwischen beiden Verteilungen, der sich nicht

Tabelle 2. *Verteilung und Typ der bei den einzelnen Männchen induzierten Mutationen.*

Nr. des Männchens	Chromosomenregion				n
	y—cv	*cv—v*	*v—f*	*f*—Spind. Ansatz	
1		26,9 letal	40,1 letal		2
2	0,0 letal 12,5 letal	27,7 *lozenge*			3
3		20,4 letal	36,7 letal		2
4		19,2 letal	34,8 letal		2
5	0,0 letal 0,0 letal		54,5 letal		3
6		18,9 letal	53,0 letal		2
7	0,8* *prune* 8,2 Defizienz	32,1 letal	54,5* *sem. sichtb.*		4
8	7,5 *ruby*	24,3 letal			2
9	6,9 *sem. sichtb.*		52,4 letal	58,4 letal	3
10	0,0* letal	21,0 *singed*		66,0* letal (*bb*-Defizienz)	3
11		24,8 letal		57,7 letal	2
12	8,2 letal 9,8 *sem. sichtb.*	17,4 letal			3
13	0,4 letal		49,8 *sem. sichtb.*	57,9 letal 62,5 *sem. sichtb.*	4
14	8,0 *downy*		40,7 letal		2
15		16,7 *sem. sichtb.*	55,2 letal		2
16	0,0 Defizienz	19,1 letal 28,6 *sem. sichtb.*			3
17		16,3 *vesiculated*	54,2 letal		2
18	0,0 letal	16,8 *sem. sichtb.*			2
19		31,4 *flap wing*		65,0 letal	2
20	0,0 letal		49,3 letal		2
21			36,2 *dusky* 50,1 letal		2
22	0,0 letal			59,2 *outstretched*	2

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

Nr. des Männchens	Chromosomenregion				n
	y—cv	*cv—v*	*v—f*	*f*—Spind. Ansatz	
23	0,0 letal	18,0 letal; 31,2 letal			3
24		19,4 letal	33,0 *sem. sichtb.*	60,0 letal	3
25			38,6 letal; 50,8 letal		2
26	3,0 *Notch*-letal; 9,4 letal		35,3 *sem. sichtb.*		3
27	8,6 letal		36,3 letal; 47,9 *pleated*		3
				Total	68

Die mit einem * versehenen Mutationen lagen auf dem gleichen X-Chromosom.

nur auf das linke Chromosomenende sondern auch auf die übrigen Chromosomenregionen erstreckte. Es erscheint daher von Interesse, darauf hinzuweisen, daß auch die in Abb. 1 wiedergegebenen Verteilungen der *sichtbaren* und *letalen* urethaninduzierten Mutationen einen deutlichen Parallelismus zeigen, dem möglicherweise trotz der kleinen Zahlen eine reelle Bedeutung zukommt. (Man vergleiche die gemeinsamen Maxima in den Regionen 0—2,5, 15—20, 30—35 und um Locus 55 sowie die gemeinsamen Minima in den Regionen 10—15, 25—30, 40—45 und um Locus 65.)

In Tabelle 2 ist die Verteilung derjenigen Mutationen noch einmal getrennt wiedergegeben, die jeweils in der Nachkommenschaft des *gleichen* Männchens gefunden wurden[1]. Mit der möglichen Ausnahme der beiden letalen Mutationen des Locus 0,0 in Männchen 5 waren die in der Nachkommenschaft des gleichen Männchens beobachteten Mutationen stets solche verschiedener Loci, also unabhängigen Ursprungs. Man achte gleichzeitig auf die Tatsache, daß in den Keimzellen desselben Männchens *nebeneinander* sichtbare und letale Mutationen induziert wurden. Von besonderem Interesse sind die Männchen 7 und 16, in deren Nachkommenschaft neben sichtbaren und letalen Punktmutationen je eine Mutation mit einem nachweislichen Chromosomenstückausfall (Defizienz 3 bzw. 1 der Tabelle 4) beobachtet wurden.

3. Nähere Analyse der induzierten rezessiven sichtbaren Mutationen.

Die Ausführungen des Abschnittes 2 zeigten, daß Urethan auf eine größere Anzahl verschiedener Chromosomen-Loci eine mutagene Wirkung ausübt. Die Frage, inwieweit Urethan hierbei selektiv auf spezifische Loci wirkt, sei nunmehr an Hand einer näheren Analyse der nach Urethanbehandlung aufgetretenen *sichtbaren* Mutationen erörtert.

[1] Die in den Keimzellen des Männchens Nr. 26 induzierte *Notch*-Mutation wurde wie auch drei weitere in den Urethanserien beobachtete *Notch*-Mutationen in den Tabellen 1 und 3 bzw. den Abb. 1 und 4 nicht geführt, weil es sich bei den *Notch*-Mutationen um rezessive letale Mutationen mit einem gleichzeitigen *dominanten* (im heterozygoten Weibchen) *sichtbaren* Effekt handelt.

Letale Mutationen sind für die Entscheidung obiger Frage weniger geeignet, da zur Feststellung der Identität letaler Mutationen weder ohne eingehende embryologische Untersuchungen der charakteristische Phänotyp der Mutante noch bei geschlechtsgebundenen Letalen der Allelie-Test als Ergänzung des Koppelungstestes herangezogen werden können.

Tabelle 3. *Phänotyp und (im Koppelungstest bestimmter) Locus der semiletalen sichtbaren Mutationen.*

Nr. der Mutation	Phänotyp		Locus
1	Sehr rauhe, teils deformierte Augen		0,0
2	Zerknitterte Flügel, oft *arc*-ähnlich; Augen leicht rauh		0,0
3	Schmale, längliche Flügel; Augen deformiert		0,7
4	Alle Tarsalglieder verschmolzen; heterozyg. ♀♀ selten *Notch*		2,1
5	Rauhe Augen; Dorsocentr. fehlen oft; kürzere Flügel		4,2
6	*vg-Notch*-ähnlicher Flügel; 2. Querader fehlt; Augen groß		6,9
7	Kürzere, etwas gespreizte Flügel		7,0
8	Struppige Borsten, zerknitterte und kleinere Flügel		9,8
9	Dunklere Körperfarbe; Flügel *arc*-ähnlich; große Augen	allel	16,7
10	Dunklere Körperfarbe; Flügel *arc*-ähnlich; große Augen		16,8
11	Scutellarborsten *forked*; Flügel *miniature*-ähnlich		28,6
12	Augen leicht kleiner, Flügel etwas *erect*		33,0
13	Sehr kleine rauhe Augen		34,3
14	Borsten teils *Stubble*-, teils *forked*-ähnlich; Augen kleiner		34,7
15	Scutellaren verklumpt; Flügel leicht *divergens*		35,3
16	kleine, *Deformed*-ähnliche Augen; alle Borsten ungleich lang		38,8
17	Etwas gespreizte, kleinere Flügel, 3. Längsader unterbrochen = Allel zu *tilt*?		40,0
18	Kleine Augen; gelblich dünne Borsten; große breite Flügel.		44,7
19	Tibia und Tarsen des 3. Beinp. *dachs*-artig, Flügel *wavy*		48,9
20	Tibia und Tarsen des 3. Beinp. *dachs*-artig, Flügel *wavy*		49,8
21	Kürzere, heruntergeschlagene Flügel; nicht allel zu *smallwing*		54,5
22	1. und 2. Querader fehlend; etwas kleinere Flügel		58,6
23	Nicht entfaltete Flügel; allel zu *folded*?		62,5
24	Winkelig abgeknickte Flügel		62,5
25	*Dichaete*-ähnliche Flügel		64,9
$n = 25$			23 *Loci*

Tabelle 3 bringt zunächst eine Zusammenstellung aller *semiletalen* sichtbaren Mutationen. Wie aus der kurzen Beschreibung des Phänotyps und der jeweiligen Angabe des Locus der einzelnen Mutationen hervorgeht, dürfte es sich in 23 der 25 untersuchten Fälle um Mutationen verschiedener Loci und nur in 2 Fällen (vgl. die Mutationen 9 und 10 sowie 19 und 20) um Mutationen identischer Loci handeln.

Die Identität der Mutationen 9 und 10 ließ sich auch durch den Allelie-Test bestätigen; bei den Mutationen 19 und 20 konnte letzterer infolge der stark herabgesetzten Vitalität dieser Mutanten nicht durchgeführt werden. Es sei noch erwähnt, daß die Mutationen 9 und 10 sowie 19 und 20 in der Nachkommenschaft verschiedener behandelter Männchen auftraten, also unabhängig voneinander entstanden sind.

Geben somit schon die Daten der semiletalen sichtbaren Mutationen für sich genommen wenig Anhaltspunkte für eine selektive Wirkung des Urethans, so gilt dieses in ähnlicher Weise für die in Abb. 4 (links) gesondert wiedergegebenen Daten der (annähernd) *normal lebensfähigen* sichtbaren Mutationen. Hier mutierten unter 21 analysierten Mutationen 18 verschiedene Loci einmal und nur 1 weiterer Locus (*singed-sn*) dreimal.

Die 3 *sn*-Mutationen traten in der Nachkommenschaft verschiedener urethanbehandelter Männchen auf; 2 der 3 Mutationen waren verschiedene Allele.

Vergleichen wir schließlich die Loci der normal lebensfähigen sichtbaren Mutationen mit denjenigen der semiletalen Mutationen, so ist von besonderem Interesse, daß keiner der 19 in Abb. 4 wiedergegebenen Loci identisch mit einem der 23 in Tabelle 3 aufgezählten Loci semiletaler Mutationen war. (Letzteres wurde in Zweifelsfällen noch durch den Allelie-Test gesichert.) Es ergibt sich somit aus einer gemeinsamen Betrachtung der in Tabelle 3 und Abb. 4 (links) aufgezählten sichtbaren Mutationen, daß *unter 46* analysierten Mutationen in etwa *35—40 Fällen*[1] *nichtidentische Loci mutierten*. Die Annahme einer *selektiven* Wirkung des Urethans auf spezifische Loci wird hiermit *hinfällig*.

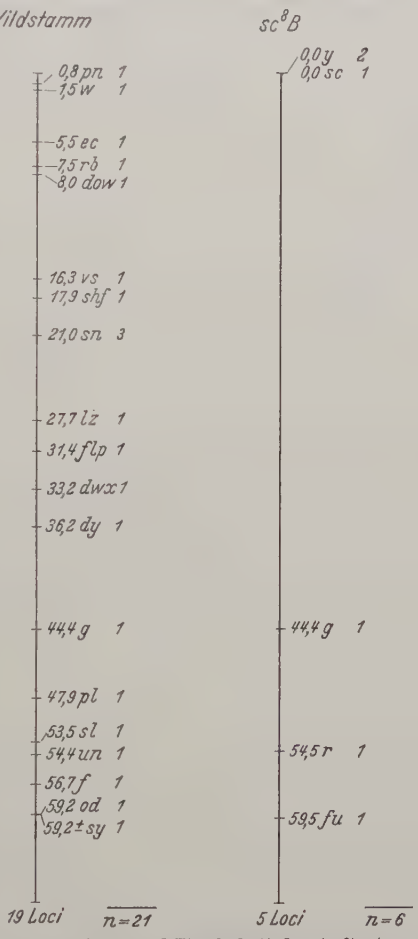


Abb. 4. Loci und Häufigkeit des Auftretens der in den Urethan-Serien beobachteten normal lebensfähigen sichtbaren Mutationen.

Die in Abb. 4 (links) aufgezählten sichtbaren Mutationen lassen noch einen weiteren Tatbestand erkennen. Es sind unter ihnen fast alle Loci vertreten, die sich sowohl im spontanen Mutationsprozeß als auch nach Einwirkung von Röntgenstrahlen durch eine erhöhte Mutationsrate auszeichnen. Hierzu gehören die Loci von *prune* (*pn*), *white* (*w*), *singed* (*sn*), *lozenge* (*lz*), *dusky* (*dy*), *garnet* (*g*), *uneven* (*un*) und *forked* (*f*). Mutationen der Loci *yellow* (*y*), *scute* (*sc*), *rudimentary* (*r*) und *fused* (*fu*), die ebenfalls durch eine hohe spontane sowie induzierte Mutationsrate charakterisiert sind, aber unter den 21 untersuchten Mutationen nicht vertreten waren, wurden ihrerseits unter den sichtbaren Mutationen eines urethanbehandelten *sc*^{8}*B*-Stammes beobachtet (Abb. 4, rechts). Dabei sind in letzterem Fall die unter 6 Mutationen beobachteten *zwei yellow*-Mutationen noch von besonderem Interesse, weil der *sc*^{8}*B*-Stamm im Vergleich zu anderen Stämmen durch eine besonders hohe spontane und röntgenstrahleninduzierte Mutabilität des *yellow*-Locus charakterisiert ist. — Es mutieren also unter Einwirkung des Urethans vorwiegend jene Loci, die auch spontan oder nach Röntgenstrahlen *bevorzugt* mutieren.

[1] Um die wenn auch wenig wahrscheinliche Möglichkeit mit einzubeziehen, daß es sich bei einigen weiteren semiletalen Mutationen dennoch um nicht erkannte Mutationen identischer Loci handelt, wurde nicht die sich aus den beiden Aufzählungen unmittelbar ergebende größere Zahl von 19 + 23 = 42 Loci genommen.

4. Chromosomale Strukturveränderungen bei den induzierten Mutationen.

Wie schon in der Einleitung (S. 325) erwähnt wurde, unterscheiden sich senfgasinduzierte Mutationen von röntgenstrahleninduzierten Mutationen durch einen geringeren Prozentsatz an großen Chromosomenumbauten. Ein ähnlicher

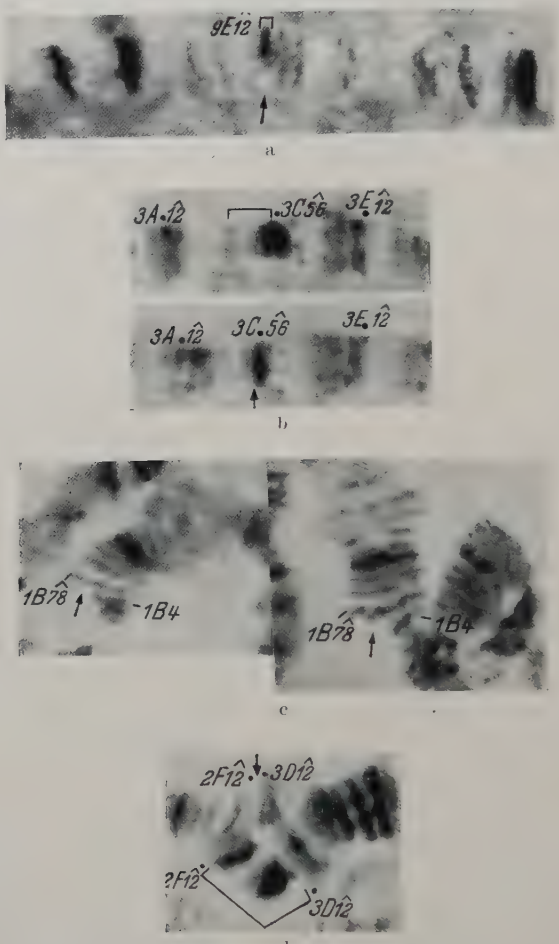


Abb. 5a—d. a Defizienz Nr. 4 der Tabelle 4. Abschnitt aus den eng gepaarten homologen X-Chromosomen einer für die Defizienz Nr. 4 heterozygoten weiblichen Larve. In dem unten liegenden Homologen fehlt in Höhe des Pfeils Bande 9 E 1,2. In der oberen Hälfte das normale X-Chromosom. 2025:1. b Defizienz Nr. 2 der Tabelle 4. Die homologen X-Chromosome sind hier getrennt. Der im normalen Chromosom links von der Bande 3 C 5,6 durch die Klammer angegebene Abschnitt fehlt in dem Chromosom unten in Höhe des Pfeils. 2700:1. c Terminale Defizienz Nr. 1 der Tabelle 4. Links: Chromosomen einer Larve, die heterozygot für ein normales X-Chromosom, rechts: einer Larve, die heterozygot für ein sc^8B-Chromosom war. Die terminale Defizienz in beiden Abbildungen über dem Pfeil im linken Chromosom. 2025:1. d Chromosomen einer Larve, die heterozygot für eine *Notch*-Defizienz war. Der im unteren normalen Chromosom durch die Klammer umgrenzte Abschnitt fehlt an der Stelle des Pfeiles im oberen Chromosom. 2025:1.

Unterschied scheint auch zwischen urethan- und röntgenstrahleninduzierten Mutationen zu bestehen. So fand sich unter 73 geschlechtsgebundenen rezessiven letalen Mutationen, die nach Urethanbehandlung aufgetreten waren, keine Translokation oder Inversion. 3 Fälle, die sich durch eine deutliche Herabsetzung

des Crossing-overs auszeichneten, waren durch das Auftreten zweier Letalfaktoren innerhalb desselben X-Chromosoms bedingt. Nach Daten von Herskowitz (1946) hätten bei einer äquivalenten Röntgenstrahlendosis, die zwischen 3—6% geschlechtsgebundene rezessive letale Mutationen induziert, $^1/_{16}$- $^1/_6$ aller Mutationen größere Chromosomenumbauten zeigen müssen, unter 73 Mutationen also etwa 7—12 Mutationen.

Tabelle 4. *Einzelheiten der unter den geschlechtsgebundenen letalen Mutationen beobachteten Defizienzen.*

Nr.	Locus	Fehlende Banden	Zahl der fehlenden Banden	Bemerkungen
1	0,0	1 A 1—1 B 3·4 (1 B 5)	12 (13)	Fehlen der Loci *y*—*sc*
2	1,5	(3 A 10) 3 B 1·2—3 C 2·3 (3 C 4)	7 (9)	Fehlen des Locus *w*
3	8,2	4 C 5·6—4 E 1·2 (4 E 3)	21 (22)	Fehlen des Locus *rb*
4	33,0	(9 D 4) 9 E 1·2 (9 E 3)	2 (4)	
5	60,2	(17 A 7·8) 17 A 9·10—17 D 3·4 (17 D 5·6)	21 (25)	

Die in Klammern angegebenen Banden bezeichnen Banden, deren Fehlen unsicher ist.

Auf der anderen Seite ergab eine Untersuchung der Speicheldrüsenchromosomen bei 5 der 73 letalen Mutationen *Banden-Defizienzen* verschiedener Länge (Tabelle 4 und Abb. 5). Die Defizienzen 1,2 und 4 fallen in die Gruppe der sog. „kleineren" Defizienzen (vgl. auch Fußnote 1, S. 324): Die Defizienzen 3 und 5 liegen an der Grenze zwischen den „kleineren" und „größeren" Defizienzen.

Rechnen wir nach Demerec und Fano (1941) alle Doppelbanden als eine Bande, so verringert sich die Zahl der fehlenden Banden bei den Defizienzen 3 und 5 auf 15 bzw. 14 Banden, und die Defizienzen 3 und 5 liegen somit noch innerhalb der für „kleinere" Defizienzen angenommenen oberen Grenze.

Es ist anzunehmen, daß eine eingehendere Analyse der Speicheldrüsenchromosomen auch noch bei einigen weiteren letalen Mutationen zur Aufdeckung „kleiner" Defizienzen geführt hätte; die in Tabelle 4 wiedergegebenen Defizienzen sollen daher nur das Auftreten chromosomaler Strukturveränderungen als solcher nach Urethanbehandlung belegen. Es sei ferner noch erwähnt, daß unter vier in den Urethanserien beobachteten Notchmutationen (vgl. Fußnote, S. 333) eine Mutation eine Defizienz von etwa 18 und eine zweite Mutation eine Defizienz von etwa 27 Chromosomenbanden aufwies. Die letztere Mutation fällt in die Gruppe der „größeren" Defizienzen (Abb. 5d).

D. Diskussion.

Die in dieser Arbeit gebrachten Ergebnisse zeigten, daß Urethan im *ClB*-Test eine deutliche, wenn auch im Vergleich zu den Körpern der Senfgasgruppe schwächere, mutagene Wirkung auf *Drosophila* ausübt. Unter den induzierten Mutationen wurden letale, subletale und sichtbare *Punktmutationen* sowie Mutationen mit *kleineren* intrachromosomalen *Defizienzen* und in 1 (bzw. 3) Fällen Mutationen mit einem *größeren Chromosomenstückausfall* beobachtet. Es treten somit nach Urethaneinwirkung abermals jene 3 Mutationsklassen auf, die S. 327 schon als charakteristisch für die Wirkung von Strahlen oder Senfgasen

genannt wurden. Das gleichzeitige Auftreten von Punkt- und Chromosomenmutationen bei Anwendung eines weiteren chemischen Agens drängt erneut die Frage auf, ob nicht den verschiedenen Mutationsklassen ein gemeinsamer Entstehungsmechanismus zugrunde liegt. Zwei Denkmöglichkeiten wären hier in erster Linie zu nennen: 1. Alle 3 Mutationsklassen sind die Folge vorangegangener Chromosomenbrüche, eine Auffassung, die für den Fall der Gen- oder Punktmutationen bisher nur von wenig Autoren vertreten wird. 2. Die gleichen einleitenden Reaktionen, die sich am Chromosom abspielen, führen bei geringerer Intensität zu Punktmutationen und erst bei stärkerer Intensität zum Chromosomenbruch und hiermit zur Entstehung kleinerer und größerer Strukturumbauten. — Eine Entscheidung der obigen Frage werden erst weitere Untersuchungen bringen können.

In den Urethanserien traten letale und sichtbare Punktmutationen in einem Zahlenverhältnis zueinander auf, das größenordnungsmäßig dem Zahlenverhältnis entsprach, das SPENCER und STERN (1948) sowohl für spontan auftretende als auch strahleninduzierte Mutationen beobachteten. Dabei muß jedoch bemerkt werden, daß die hier verglichenen Werte nur erste Näherungswerte darstellen. Für eine nähere vergleichende Analyse spontaner und durch verschiedene physikalische und chemische Agentien induzierter Mutationen wäre es in Zukunft von besonderem Interesse, das Zahlenverhältnis zwischen letalen und sichtbaren Mutationen gesondert für Mutationen einzelner Chromosomen-Loci zu bestimmen. So gelang es z. B. auch STADLER und ROMAN (1943 und 1948) durch eine ähnliche Analyse an Mais Unterschiede zwischen der Wirkung von Röntgen- und Ultravioletttstrahlen aufzudecken. Die durch Röntgenstrahlen induzierten Mutationen am *A*-Locus waren im Gegensatz zu den ultraviolettinduzierten Mutationen vorwiegend mit Letalitätseffekten verknüpft. Es ist durchaus möglich, daß sich in Zukunft ein ähnlicher Unterschied zwischen röntgenstrahlen- und chemischinduzierten Mutationen aufdecken lassen wird.

Wie in Abschnitt 3 gezeigt wurde, übt Urethan keine selektive Wirkung auf spezifische Chromosomen-Loci aus. Hiergegen spricht sowohl die große Zahl verschiedener Loci, die nach Urethaneinwirkung mutierten, als auch die Tatsache, daß die urethaninduzierten Mutationen vorwiegend Mutationen jener Loci waren, die sich gleichzeitig durch eine erhöhte spontane sowie röntgenstrahleninduzierte Mutabilität auszeichnen. Der Befund, demzufolge Loci mit einer hohen spontanen Mutationsrate auch eine besondere Empfindlichkeit gegenüber chemischen Agentien zeigen, weist auf die Möglichkeit hin, daß auch die spontanen Mutationen durch natürlich vorkommende chemische Substanzen exogener oder endogener Herkunft verursacht werden. Letztere Annahme würde, worauf schon AUERBACH (1947) hinwies, zugleich verständlich machen, warum Agentien, die den Stoffwechsel beeinflussen (wie z. B. Alter, Hunger, extreme Kälteeinwirkung) auch Änderungen der spontanen Mutationsrate bedingen.

Fragen wir uns schließlich nach dem Mechanismus, durch den Urethan seine mutagene Wirkung ausübt, so lassen sich heute leider auch hierüber lediglich Vermutungen äußern. Der soeben erwähnte auffällige Parallelismus zwischen spontanen und urethaninduzierten Mutationen auf der einen Seite, und die Tatsache, daß sehr verschiedenartige Faktoren die spontane Mutationsrate zu beeinflussen vermögen, auf der anderen Seite, lassen neben einer direkten (treffer-

artigen) Wirkung auf das Chromosom auch an die Möglichkeit einer mehr oder weniger indirekten Wirkung des Urethans denken. Diese indirekte Wirkung könnte sich auf verschiedenen Ebenen innerhalb der Zelle abspielen. So könnte z. B. das Urethan zunächst im Zelleib eine Reaktion auslösen, die später auf den Kern übergreift und hier über Veränderungen des Nukleoproteinstoffwechsels schließlich zur Mutation führt, oder aber das Urethan könnte direkt mit einem der Bestandteile des Chromosoms reagieren und in diesem eine Kette von chemischen Reaktionen induzieren, deren Endglied die beobachtete Mutation darstellt.

Im Falle des Senfgases halten Auerbach und Robson (1947) eine direkte Wirkung des Senfgases auf die Chromosomen für wahrscheinlich. So fanden die Autoren keine Erhöhung der Mutationsrate in Spermienchromosomen, die in senfgasbehandeltes Eizellplasma eingeführt wurden. Es muß allerdings hinzugefügt werden, daß letzterer Befund nicht völlig beweiskräftig ist, da zwischen der Behandlung der Weibchen und der Befruchtung der Eizellen eine Zeitspanne von mindestens 6—8 Std lag, eine Zeitspanne, innerhalb der die durch das Senfgas in dem Zytoplasma induzierte (hypothetische) Reaktion schon abgeklungen sein könnte.

Es ist zu hoffen, daß in Zukunft eine eingehendere vergleichende Analyse der mutagenen Wirkungen verschiedener chemischer, physikalischer und physiologischer Agentien uns ein Mittel geben wird, sowohl dem Wirkungsmechanismus des Urethans als auch eines Tages dem Entstehungsmechanismus spontaner Mutationen selbst näher zu kommen.

Zusammenfassung.

Urethan hat bei *Drosophila* eine deutliche mutationsauslösende Wirkung. Die durch Urethan induzierten Mutationen waren entweder mit Chromosomenstückausfällen verbunden oder sie gehörten zur Klasse der sog. „Punkt"-Mutationen. Die vorwiegend zur letzteren Klasse gehörenden letalen und sichtbaren Mutationen traten in einem Zahlenverhältnis zueinander auf, das dem von anderen Autoren an bestrahltem oder unbehandeltem Material beobachteten Zahlenverhältnis entspricht. Ferner ergaben sich keine Anzeichen einer selektiven Wirkung des Urethans auf bestimmte Chromosomen-Loci. Die Loci, die nach Urethanbehandlung vorwiegend befallen wurden, sind die gleichen Loci, die eine erhöhte spontane Mutationsrate besitzen und zugleich eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Röntgenstrahlen zeigen.

Für die Anregung zur vorstehenden Arbeit möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Prof. Oehlkers meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literatur.

Auerbach, C.: Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 211 (1946). — The induction by mustard gas of chromosomal instabilities in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 307 (1947). — Auerbach, C., and J. M. Robson: The production of mutations by chemical substances. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 271 (1947a). — Test of chemical substances for mutagenic action. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 284 (1947b). — Demerec, M.: Mutations in *Drosophila* induced by a carcinogen. Nature (Lond.) **159**, 604 (1947). — Induction of mutations in *Drosophila* by dibenzanthracene. Genetics **33**, 337 (1948). — Demerec, M., and U. Fano: Mechanism of the origin of X-ray induced *Notch* deficiencies in *Drosophila melanogaster*. Proc. nat. Acad. Sci. (USA.) **27**, 24 (1941). — Hadorn, E., and H. Niggli: Mutations in

Drosophila after chemical treatment of gonads *in vitro*. Nature (Lond.) **157**, 162 (1946). — Hadorn, E., S. Rosin u. G. Bertani: Ergebnisse der Mutationsversuche mit chemischer Behandlung von *Drosophila*-Ovarien in *vitro*. Hereditas (Lund) Suppl. 256 (1948). — Herskowitz, I. H.: The relationship of X-ray induced recessive lethals to chromosomal breakage. Amer. Naturalist **80**, 588 (1946). — Morgan, T. H., C. B. Bridges and A. H. Sturtevant: The genetics of *Drosophila*. Bibliogr. Genet. **2**, 1 (1925). — Muller, H. J.: The Problem of Genic Modification. Z. Vererbungslehre Suppl. **1**, 234 (1928). — The Gene. Pilgrim Trust Lecture. Proc. roy. Soc. (Lond.) B **134**, 1 (1947). — Niggli, Hedi: Erzeugung von Mutationen mit Phenollösung durch Behandlung von *Drosophila*-Ovarien in vitro. Arch. Klaus-Stiftg **21**, 475 (1946). — II. Wirkung von Phenol bei Behandlung von Larvenovarien in vitro, sowie nach Verfütterung und Eibehandlung. Genetica ('s-Gravenhage) **24**, 1 (1948). — Oehlkers, F.: Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. Z. Vererbungslehre **81**, 313 (1943). — Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. Biol. Zbl. **65**, 176 (1946). — Slizynska, H., and B. M. Slizynski: Genetical and cytological studies of lethals induced by chemical treatment in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 234 (1947). — Spencer, W. P., and C. Stern: Experiments to test the validity of the linear r-dose/mutation frequency relation in *Drosophila* at low dosage. Genetics **33**, 43 (1948). — Stadler, L. J., and H. Roman: The genetic nature of X-ray and ultraviolet induced mutations affecting the gene A in maize. Genetics **28**, 91 (1943). — The effect of X-rays upon mutation of the gene A in maize. Genetics **33**, 273 (1948). — Vogt, Marguerite: Mutationsauslösung bei *Drosophila* durch Äthylurethan. Experientia **4**, 68 (1948).

Dr. Marguerite Vogt, (17b) Neustadt im Schwarzwald,
Institut für Hirnforschung.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 341—346 (1950).

Aus dem Institut für Hirnforschung, Neustadt (Schwarzwald).

ERGÄNZENDE BEFUNDE ZUR MUTAGENEN WIRKUNG DER URETHANE (CARBAMINSÄUREESTER) BEI DROSOPHILA.

Von

MARGUERITE VOGT.

(Eingegangen am 17. März 1950.)

Die bei *Drosophila* durch Körper der *Senfgasgruppe* induzierten Mutationen zeigen nach AUERBACH (1946, 1947 und im Druck; AUERBACH und ROBSON 1947a und b) im Vergleich zu röntgenstrahleninduzierten Mutationen unter anderem folgende 3 Besonderheiten: 1. Lösen Senfgase bei einer gleichen Zahl geschlechtsgebundener rezessiver Letalfaktoren weniger große Chromosomenumbauten, speziell weniger Translokationen aus. 2. Tritt in der Nachkommenschaft senfgasbehandelter Tiere ein größerer Prozentsatz an Mosaikmutanten[1] auf. 3. Ist nach Senfgaseinwirkung die Mutationsrate in den Spermatozoen am höchsten, die erst bei den späteren Kopulationen, 6—18 Tage nach der Senfgasbehandlung, zur Befruchtung kommen (AUERBACH, im Druck; KAUFMANN, GAY und ROTHBERG 1949). (Nach Röntgenstrahleneinwirkung erreicht die Mutationsrate dagegen ihren höchsten Wert schon in den bei den ersten Kopulationen übertragenen Spermatozoen; sie bleibt die ersten 10 Tage etwa konstant und fällt anschließend stark ab.)

In der in dem gleichen Heft veröffentlichten Arbeit, die sich mit einer näheren Analyse der mit *Äthylurethan* induzierten Mutationen bei *Drosophila* befaßte, wurde schon kurz erwähnt, daß offenbar auch für Äthylurethan ein relativer Mangel an Translokationen charakteristisch ist. Die Frage, in wieweit auch die soeben unter 2. und 3. aufgeführten Besonderheiten senfgasinduzierter Mutationen in gleicher Weise für urethaninduzierte Mutationen zutreffen, wurde damals wegen noch ungenügender Daten nicht berührt. Da die zunächst noch fortgesetzten Versuche jetzt aus äußeren Gründen abgebrochen werden, sei im folgenden über die erzielten Ergebnisse kurz berichtet; letztere dürften auch in der jetzigen Form für eine zukünftige vergleichende Betrachtung der mutagenen Wirkungen verschiedener chemischer Agentien von einigem Interesse sein.

1. Induktion von „Gonaden-Mosaiken"[2] durch Äthylurethan.

Um zu prüfen, ob Äthylurethan ähnlich den Senfgasen eine erhöhte Zahl von Mosaik-Mutanten induziert, wurde die Nachkommenschaft äthylurethanbehandelter *Drosophila*-♂♂ speziell auf das Vorhandensein von *Gonaden-Mosaiken* eines Letalfaktors näher untersucht. Der hierbei verwandte Test, der auch schon von AUERBACH (1947) bei der Untersuchung senfgasinduzierter Mosaik-Mutanten

[1] Unter einer „Mosaikmutante" versteht man ein Individuum, das nebeneinander Zellen der normalen und solche der mutierten genotypischen Konstitution besitzt.

[2] Als „Gonaden-Mosaik" sei im folgenden ein Tier bezeichnet, bei dem nur ein Teil der Gonaden mutiert ist.

neben anderen Methoden herangezogen wurde, besteht in einer näheren Analyse anscheinend „semiletaler" Mutationen. Er will bestimmen, wieviel der gewöhnlich als „semiletal" klassifizierten Mutationen auf einem „Gonaden-Mosaikismus" einer voll-letalen Mutation beruhen.

Es wurden zu diesem Zwecke urethaninjizierte *Wildtyp* (+)-♂♂ mit homozygoten *Bar-apricot* (*Bw*^{a})-♀♀[1] gekreuzt. Die in der F_1 schlüpfenden *Bw*^{a}/+ -♀♀ wurden anschließend einzeln mit *Bw*^{a}-♂♂ angesetzt und die F_2-Kulturen auf das Vorhandensein letaler sowie „semiletaler" Mutationen durchgesehen. Da normalerweise + - und *Bw*^{a}-♂♂ in den F_2-Kulturen in etwa *gleicher* Anzahl zu erwarten sind, ist das Auftreten einer letalen Mutation in dem behandelten *X*-Chromosom an dem völligen *Fehlen*, das Auftreten einer „semiletalen" Mutation an der stark *verringerten* Zahl von +-♂♂ in den F_2-Kulturen zu erkennen. Wie aber oben schon kurz angedeutet wurde, ist die verminderte Zahl von +-♂♂ in den F_2-Kulturen allein noch kein Beweis, daß in dem behandelten X-Chromosom eine die Vitalität einschränkende, sog. „semiletale", Mutation induziert wurde. Eine solche F_2-Kultur wäre auch zu erwarten, wenn das zugehörige F_1-♀ heterozygot nicht einen semiletalen Faktor, sondern in einem Abschnitt seiner Gonaden eine voll-letale Mutation (*Bw*^{a} *l*), in den restlichen Gonadenbezirken den unmutierten Faktor (*Bw*^{a}/+) enthalten hätte. Um zwischen diesen beiden Möglichkeiten zu entscheiden, wurden je 25—30 heterozygote F_2-♀♀ der fraglichen Kulturen einzeln mit *Bw*^{a}-♂♂ gekreuzt. Die untersuchte Mutation erwies sich dann als semiletal, wenn *alle* getesteten F_2-♀♀ der gleichen Kultur (d. h. Töchter desselben F_1-♀) abermals in ihrer Nachkommenschaft eine verringerte Zahl von +-♂♂ aufwiesen. Ein Gonaden-Mosaikismus einer voll-letalen Mutation bei den F_1-♀♀ ließ sich dagegen daran erkennen, daß solche F_1-♀♀ *zweierlei* Töchter besaßen: erstens F_2-♀♀, in deren Nachkommenschaft +-♂♂ völlig fehlten (diese F_2-♀♀ waren aus Eiern des mutierten Gonadenbezirkes hervorgegangen) und zweitens F_2-♀♀, in deren Nachkommenschaft +-♂♂ in normaler Zahl auftraten (diese F_2-♀♀ hatten sich aus Eiern des unmutierten Gonadenbezirkes entwickelt).

Das Ergebnis einer solchen Analyse, die an 18 in der Nachkommenschaft urethaninjizierter *Drosophila*-♂♂ aufgetretenen, anscheinend „semiletalen" Mutationen durchgeführt wurde, ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist (letzte Reihe, Spalte 5 und 6), ließen sich 9 oder 50% der untersuchten „semiletalen" Mutationen auf Gonaden-Mosaikismus einer voll-letalen Mutation zurückführen. Dieses Verhältnis entspricht größenordnungsmäßig dem von AUERBACH (1947) für senfgasinduzierte Mutationen erhaltenen Wert (unter 20 geprüften „semiletalen" Mutationen fanden sich hier 9 Gonadenmosaike). Da andrerseits Gonaden-Mosaike eines Letalfaktors nach Röntgenstrahleneinwirkung relativ selten auftreten [unter 15 röntgenstrahleninduzierten „semiletalen" Mutationen wurde von AUERBACH (1947) nur 1 Gonaden-Mosaik beobachtet], scheinen die obigen Befunde darauf hinzuweisen, daß auch *Äthylurethan* im Vergleich zu Röntgenstrahlen einen *größeren Prozentsatz* an *Mosaik-Mutanten* induziert.

Aus den vorliegenden Befunden ergab sich noch ein weiteres. Von den 9 Gonaden-Mosaiken, die in der F_1 urethanbehandelter Fliegen-♂♂ auftraten, übertrug kein F_1-♀ seinen Gonaden-Mosaikismus auf eine seiner Töchter, d. h. kein F_2-♀ ergab erneut eine anscheinend „semiletale" F_3-Kultur. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Beobachtungen AUERBACHS (1947) an senfgasinduzierten Gonaden-Mosaiken, bei denen 4 von 9 untersuchten F_1-♀♀ 1 oder 2 Töchter (F_2-Generation) hatten, die in ihrer Nachkommenschaft (F_3-Generation) abermals

[1] Die hier benutzten *Bw*^{a}-Tiere stammten aus einem *Muller*-5-Stamm; neben den Mutationen *Bar* (bandförmige Augen) und *apricot* (aprikosenfarbene Augen) enthalten *Muller*-5-Fliegen in ihrem X-Chromosom noch 2 Inversionen. Auf Grund der letzteren kommt es in heterozygoten *Muller*-5-♀♀ nur selten zu lebensfähigen Austauschtieren.

Tabelle 1. *Induktion von „Gonaden-Mosaikismus" durch Äthylurethan. („Muller-5"-Test).* (In allen Versuchsserien wurde eine m/4 Äthylurethandosis, gelöst in 0,75% NaCl-Lösung, in 2 Tage alte Fliegen-♂♂ injiziert).

Versuchs-Nr.	Temperatur nach der Injektion	Zahl der F_2-Kulturen	Zahl der geschlechtsgebundenen Mutationen				Prozent an Letal-mutationen
			letale	anscheinend „semiletale"		sichtbare	
				echte semiletale	Gonaden-Mosaikismus		
84	2 Std 6—8°, Rest 25°	325	28	1	1	3	8,6
88	2 Std 6—8°, Rest 25°	402	29	0	2	6	7,2
94A	2 Std 6—8°, Rest 25°	606	32	2	2	5	5,3
94B[1]	2 Std 6—8°, Rest 25°	462	19	3	2	2	4,1
95	ganze Zeit 25°	435	21	1	2	4	4,8
100A + B[1]	ganze Zeit 25°	551	24	2	0	2	4,3
Total	—	2781	153	9	9	22	5,5

[1] Unter „B" wurden die Spermatozoengruppen zusammengefaßt, die erst zwischen dem 2.—6. Tag nach der Urethaninjektion zur Befruchtung kamen (vgl. Abschnitt 2).

eine verminderte Zahl von + -♂♂ aufwiesen. (Diese anscheinend „semiletalen" F_3-Kulturen spalteten in der F_4 wieder in voll-letale und normale Kulturen auf.) Vornehmlich aus dieser Feststellung hat AUERBACH auf eine „Nachwirkung" des Senfgases auf den Mutationsprozeß geschlossen. Sollten auch bei künftigen Untersuchungen Gonaden-Mosaiken in der F_2 urethanbehandelter Fliegen-♂♂ nicht beobachtet werden, so würde für die Annahme einer „*Nachwirkung*" des *Äthylurethans* auf das Mutationsgeschehen eine Hauptstütze *fortfallen*. Für die Deutung des bei Urethan im Vergleich zu Röntgenstrahlen vermehrten Auftretens von Mosaik-Mutanten in der F_1 erscheint an Stelle der Annahme einer Nachwirkung diejenige hinreichend, daß nach Urethan öfter nur *einige* der *Längselemente* des behandelten Spermienchromosoms mutieren.

2. Mutationsrate in Spermatozoen, die zu verschiedenen Zeiten nach der Urethanbehandlung zur Befruchtung kommen.

Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, ist die Mutationsrate nach Senfgaseinwirkung in den Spermatozoengruppen am höchsten, die erst bei den späteren Paarungen, d. h. einige Tage nach der Behandlung, zur Befruchtung gelangen. In Tabelle 2 sind Ergebnisse wiedergegeben, die an urethaninjizierten *Drosophila*-♂♂ gewonnen wurden.

Die behandelten Fliegen-♂♂ wurden 24 Std nach der Urethaninjektion je mit 2 virginellen Bw^a-♀♀[1] gekreuzt; am Ende des 1., 6. und 12. Tages wurden die ♂♂ in frische Futtergläschen übertragen und jeweils mit neuen virginellen Bw^a-♀♀ gekreuzt. Die Nachkommenschaft aus den verschiedenen Kulturen wurde getrennt auf das Vorhandensein geschlechtsgebundener rezessiver Letalfaktoren untersucht.

[1] Vgl. Fußnote 1, S. 342.

Tabelle 2. *Häufigkeit geschlechtsgebundener Mutationen in Spermatozoen, die zu verschiedenen Zeiten nach der Urethanbehandlung zur Befruchtung kamen (Muller-5-Test).*

Es wurde eine m/4 Äthylurethandosis, gelöst in 0,75% NaCl-Lösung, injiziert. Da die Ergebnisse von 3 Versuchen zusammengefaßt wurden, sind die in den einzelnen Versuchen gefundenen niedrigsten und höchsten Prozentsätze an letalen Mutationen in Klammern angeführt.

Bezeichnung der Spermatozoengruppen	Befruchtungszeit nach der Urethanbehandlung	Zahl der geprüften F_2-Kulturen	Zahl der geschlechtsgebundenen Mutationen			Prozent letaler Mutationen
			letale	„semiletale"	sichtbare	
A	1. Tag	1299	80	6	13	6,2 (5,3—7,2)
B	2.—6. Tag	1054	34	8	4	3,2 (1,9—4,1)
C	7.—12. Tag	1038	14	1	2	1,3 (0,7—1,9)
D	13.—18. Tag	1505	15	1	—	1,0 (0,8—1,3)

Wie die Tabelle zeigt, fand sich der höchste Prozentsatz an Mutationen (6%) in den Spermatozoengruppen, die am ersten Tag zur Befruchtung gelangten; in den Kulturen, die sich aus Kopulationen zwischen dem 6.—18. Tag ableiteten, war die Mutationsrate dagegen wieder auf Werte um 1% herabgesunken. *Es unterscheidet sich also hier die mutagene Wirkung des Urethans von derjenigen der Senfgase.* Ein solcher Unterschied ließe sich neben anderen Denkmöglichkeiten am einfachsten durch die Annahme erklären, daß Urethan im Gegensatz zu den Senfgasen *vorzugsweise* auf *reife* Keimzellen mutagen wirkt. Es erscheint in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse, daß AUERBACH und MOSER (1949) bei der Analyse der mutagenen Wirkung *formalin*behandelten Futters Befunde erhielten, die ebenfalls auf eine erhöhte Empfindlichkeit älterer Keimzellen gegenüber dem hier noch unbekannten chemischen Mutagen hinweisen.

3. Fehlende mutagene Wirkung des Butylurethans im „Muller-5"-Test.

Nach Untersuchungen DEMERECS (1947, 1948 und 1949) besitzen einige cancerogene Kohlenwasserstoffe und Azo-Verbindungen eine, wenn auch sehr schwache, mutagene Wirkung bei *Drosophila*. Es sei daher in diesem Zusammenhang erwähnt, daß Äthylurethan neben seinen mutagenen auch cancerogene Eigenschaften (bei der Maus) besitzt (LARSEN 1947). Da die Befunde DEMERECS auf die Möglichkeit hinweisen, daß ein gewisser Parallelismus zwischen Mutagenität und Carcinogenität besteht, erschien es von Interesse, die gleiche Frage auch für die Gruppe der Urethane zu prüfen. Zu diesem Zweck wurde neben Äthylurethan noch Butylurethan[1], das nach LARSEN (1947) keine cancerogene Wirkung bei der Maus zeigt, auf seine mutagene Wirkung bei *Drosophila* näher untersucht.

In einer ersten Versuchsserie wurde an den gleichen Tagen in einen Teil der *Drosophila*-♂♂ eines Berlin-wild-Stammes eine m/4 Äthylurethanlösung, in einen anderen Teil der Fliegen-♂♂ eine m/16 Butylurethanlösung injiziert. (Die Urethane wurden zu diesem Zweck in einer

[1] Für die freundliche Überlassung des Butylurethans (Carbaminsäure-butylesters) möchte ich auch an dieser Stelle Dr. LATARJET, Paris, Institut Pasteur, bestens danken.

Tabelle 3. *Fehlende mutagene Wirkung des Butylurethans im „Muller-5"-Test.*

Versuchsreihe Nr.	Injizierte Substanzen + 2 Std bei 6° C[1]	Konzentration	Prozentsatz der überlebenden Männchen nach 1 Tag %	Prozentsatz der überlebenden Männchen nach 6 Tagen %	Zahl der geprüften F_2-Kulturen	Zahl der geschlechtsgebundenen Mutationen: letale	„semiletale"	sichtbare	Prozent letaler Mutationen	Zahl der geprüften P-Männchen	Zahl der P-Männchen mit letalen Mutationen
1	Äthylurethan	m/4	51	48	764	56	3[2]	9	7,3	52	32
	Butylurethan	m/16	80	48	946	1	—	—	0,1	79	1
2	Butylurethan	m/12	15	—	78	—	—	—	0,0	5	0
	Butylurethan	m/24	88	—	1084	4	—	—	0,4	62	3

[1] Die Fliegen-♂♂ wurden unmittelbar nach der Injektion für 2 Std bei 6° C gehalten.
[2] Zwei der drei anscheinend „semiletalen" Mutationen waren Gonaden-Mosaiken (vgl. hierzu Abschnitt 1).

0,75% NaCl-Lösung gelöst.) Die behandelten ♂♂ wurden anschließend je mit 2 virginellen *Bw*^{a}-♀♀ eines *Muller*-5-Stammes[1] gekreuzt und die F_2 auf das Vorhandensein geschlechtsgebundener Mutationen untersucht („*Muller*-5"-Test). — Beide Urethanlösungen zeigten (Tabelle 3, Spalte 4) etwa die gleiche Toxizität. (Die letale Wirkung des Butylurethans äußert sich im Gegensatz zu derjenigen des Äthylurethans durchschnittlich etwas später.) In einer 2. Serie wurde an den gleichen Versuchstagen in einen Teil der Fliegen-♂♂ eine m/12, in einen anderen Teil der ♂♂ eine m/24 Butylurethanlösung injiziert. Obwohl von 547 ♂♂, die eine m/12 Dosis erhielten, 80 ♂♂ den ersten Tag nach der Injektion überlebten, gelang es nur, von 5 ♂♂ eine Nachkommenschaft zu erhalten (Tabelle 3, vorletzte Spalte).

Wie aus Tabelle 3 zu ersehen ist, erwies sich Butylurethan in den geprüften Dosen als nicht mutagen. Der Prozentsatz an geschlechtsgebundenen letalen Mutationen schwankte zwischen 0,1—0,4%, während derselbe in der Nachkommenschaft äthylurethaninjizierter ♂♂ 7,3% erreichte. Es besteht somit für die beiden geprüften Urethane ein *Parallelismus* zwischen *mutagenen* und *cancerogenen* Eigenschaften. Es ist in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse, daß schon LATARJET u. a. (1949) beim Vergleich der „mutagenen"[2] Wirkungen einiger Urethane bei *Bakterien* ein entsprechendes Ergebnis erhielten. Auch hier war nach Äthylurethaneinwirkung die Zahl phagenresistenter Mutanten deutlich erhöht, während sie nach Butylurethan unbeeinflußt blieb.

Fragen wir uns zum Schluß noch nach der Bedeutung, die dem Parallelismus zwischen mutagenen und cancerogenen Eigenschaften für die Krebsgenese zukommt, so ist dieser wohl eine Stütze aber noch kein hinreichender Beweis für die Auffassung, daß sich die Krebszelle von einer normalen Körperzelle durch eine Mutation ihres Genoms unterscheidet. Eine positive Korrelation zwischen Mutagenität und Carcinogenität wäre z. B. auch dann vorhanden, wenn wir annehmen, daß Agentien, die störend in den Nucleoproteidstoffwechsel des Kernes eingreifen, ebenfalls den Stoffwechsel (speziell den Nucleoproteidstoffwechsel?) des Cytoplasmas schädigen. Sie könnten in diesem Fall direkt, also nicht über den Weg einer Kernveränderung, die notwendigen Bedingungen für die Entstehung einer Krebszelle schaffen.

[1] Vgl. Fußnote 1, S. 342.
[2] Eine chromosomale (oder genische) Basis der bei Bakterien induzierten phagenresistenten Mutanten erscheint wahrscheinlich, darf aber noch nicht als endgültig gesichert betrachtet werden.

Zusammenfassung.

1. Die Hälfte der anscheinend „semiletalen" Mutationen in der Nachkommenschaft urethanbehandelter *Drosophila*-♂♂ beruht auf einem Gonaden-Mosaikismus der F_1-♀♀. Letztere übertrugen ihren Gonaden-Mosaikismus nicht auf ihre Töchter. Das vermehrte Auftreten von Mosaik-Mutanten in der F_1 urethaninjizierter ♂♂ läßt sich durch die Annahme erklären, daß nach Urethan im Vergleich zu Röntgenstrahlen öfter nur einige der Längselemente des behandelten Spermienchromosoms mutieren. Sichere Hinweise für eine „Nachwirkung" der Urethanbehandlung fehlen bisher.

2. Die Mutationsrate ist in den Spermatozoengruppen am höchsten, die kurz nach der Urethanbehandlung zur Befruchtung kommen. Es wird dieses dahin gedeutet, daß Urethan vorzugsweise auf reife Keimzellen mutagen wirkt.

3. Butylurethan, das in der Maus keine cancerogene Wirkung ausübt, ist bei *Drosophila* nicht mutagen.

Literatur.

Auerbach, C.: Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 211 (1946). — The induction by mustard gas of chromosomal instabilities in *Drosophila melanogaster*. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 307 (1947). — Differences between X-ray and chemically induced mutations. Publ. Staz. zool. di Napoli (im Druck). — Auerbach, C., and H. Moser: Analysis of the genetical action of formalin-treated food. DIS. **23**, 82 (1949). — Auerbach, C., and J. M. Robson: The production of mutations by chemical substances. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 271 (1947a). — Tests of chemical substances for mutagenic action. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 284 (1947b). — Demerec, M.: Mutations in *Drosophila* induced by a carcinogen. Nature (Lond.) **159**, 604 (1947). — Induction of mutations in *Drosophila* by dibenzanthrancene. Genetics **33**, 337 (1948). — Chemical mutagens. Proc. VIIIth Internat. Congr. Genetics, Hereditas, Suppl. **1949**. — Kaufmann, B. P., H. Gay and H. Rothberg jr.: The influence of near infrared radiation on the production by nitrogen mustard of chromosome rearrangements in *Drosophila*. J. of exper. Zool. **111**, 415 (1949). — Latarjet, R., C. Elias et N. P. Bun-Hoi: Production d'une mutation bactérienne par des cancérigènes hydrosolubles. C. r. Soc. Biol. Paris **143**, 776 (1949).

Dr. Marguerite Vogt, (17b) Neustadt im Schwarzwald,
Institut für Hirnforschung.

Band 83 **Inhalt.** 3. Heft

Seite

Oehlkers, Friedrich, und Hans Marquardt, Die Auslösung von Chromosomenveränderungen durch Injektion wirksamer Substanzen in die Knospen von *Paeonia tenuifolia*. Mit 17 Textabbildungen 299

Harte, Cornelia, Dominanzwechsel bei *Oenothera* als genetisches und entwicklungsphysiologisches Problem 318

Vogt, Marguerite, Analyse durch Äthylurethan bei *Drosophila* induzierter Mutationen. Mit 5 Textabbildungen 324

Vogt, Marguerite, Ergänzende Befunde zur mutagenen Wirkung der Urethane (Carbaminsäureester) bei *Drosophila*. 341

Aufnahmebedingungen.

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt Korrekturkosten nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskripte sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z. B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z. B.: Sax, K.: Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. Genetics **32**, 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.

Die technischen Grundlagen der Kinematischen Zellforschung

Vorschläge für eine exakte wissenschaftliche Mikrokinematographie

von

Prof. Dr. phil. habil. **Willi Kuhl**

Leiter des Institutes für Kinematische Zellforschung zu Frankfurt am Main

Mit 57 Abbildungen (118 Einzeldarstellungen)

VIII, 185 Seiten. 1949. DMark 26.—

In jahrelanger Forschungsarbeit konnten in dem Frankfurter Institut des Verfassers Wege in das wissenschaftliche Neuland der Kinematischen Zellforschung gebahnt werden. In dem vorliegenden Werk sind ausführlich und im Zusammenhang die Erfahrungen niedergelegt, die mit der Technik der mikrokinematographischen Methodik gesammelt wurden. Objekt der Methodik ist ausschließlich die lebende Zelle; die Fragestellungen betreffen die Gebiete der Zellforschung im weiteren Sinne, also auch der Entwicklungsgeschichte, Entwicklungsphysiologie und Protozoologie. Besonderer Nachdruck wird auf die Änderung des „Zeitmoments" des Menschen gelegt, die als notwendige Ergänzung jeder ernsthaften Untersuchung lebenden Zellmaterials gefordert wird, sowie ferner auf die Bedeutung der „Teilbild-Analyse", die nach der Untersuchung des „Laufbildes" eines gedehnten oder gerafften Films noch reiche wissenschaftliche Ausbeute verspricht. Den künftigen Mitarbeitern auf diesem an Bedeutung noch gewaltig zunehmenden Forschungsgebiet soll der große Zeitverlust erspart werden, der ohne genaue Kenntnis der apparativen und methodischen Hilfsmittel allein durch das Studium der Originalarbeiten nicht vermeidbar ist.

Inhaltsübersicht:

Einleitung. **Das Arbeitsgebiet der Kinematischen Zellforschung. Die Aufnahmeapparatur nebst Hilfseinrichtungen und Lichtquellen.** Eine einfache Zeitrafferapparatur. Die Askania-Z-Kamera mit automatischem Zeitraffer; Erfahrungen und Verbesserungen. Hilfseinrichtungen für die wissenschaftlichen Filmaufnahmen mit der Askania-Z-Kamera. Die Lichtquellen für Mikrofilmaufnahmen. — **Anleitungen und Ratschläge zur mikroskopischen Untersuchungstechnik lebender Zellen und Gewebe in Verbindung mit Zeitrafferfilmaufnahmen.** Vorbemerkungen. Bemerkungen zur Aufnahmeoptik in Anpassung an die Mikrozeitrafferfilmaufnahme. Die Beleuchtung des Objektes. Die Lichtfilter. Der Wärmeschutz. Die Untersuchungsmedien. — **Die Filmaufnahme zur Änderung des Zeitmomentes.** Die Fragestellung. Die Wahl des Objektes. Die Berechnung der Beschleunigung. Die Technik der Aufnahme. Die Weiterbehandlung der belichteten Negative. Der Schnitt. — **Die wissenschaftliche Filmauswertung.** Das Zeitraffer-Laufbild und seine Auswertung. Die Teilbildanalyse. — **Die Ausgestaltung der Kinematischen Zellforschung.**

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg.
Printed in Germany